



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI**  
**EXTENSIÓN LA MANÁ**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS**  
**NATURALES**  
**CARRERA INGENIERÍA AGRONÓMICA**  
**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

**OBTENCIÓN DE PLANTAS IN VITRO DEL CULTIVO DE LA FRAMBUESA  
(*Rubus idaeus*) MEDIANTE MICROPROPAGACIÓN, EN EL CANTÓN  
CEVALLOS, PROVINCIA TUNGURAHUA**

Proyecto de Investigación presentado previo a la obtención del Título de Ingeniero/a  
Agrónomo/a

**Autora:**

Ugsha Chaluiza Eveling Liseth

**Tutor:**

MSc Ing. Kleber Augusto Espinosa Cunuhay

**LA MANÁ-ECUADOR**  
**AGOSTO-2022**

## DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Yo, Ugsha Chaluzia Eveling Liseth declaro, ser la autora del presente proyecto de investigación: “OBTENCIÓN DE PLANTAS IN VITRO DEL CULTIVO DE LA FRAMBUESA (*Rubus idaeus*) MEDIANTE MICROPROPAGACIÓN, EN EL CANTÓN CEVALLOS, PROVINCIA TUNGURAHUA”, siendo el Ing. Kleber Augusto Espinosa Cunuhay MSc. Tutor del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Además, certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de nuestra exclusiva responsabilidad.



Ugsha Chaluzia Eveling Liseth  
C.I. 1207857523

## **AVAL DEL TUOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

En calidad de Tutor del Trabajo de Investigación sobre el título: “OBTENCIÓN DE PLANTAS IN VITRO DEL CULTIVO DE LA FRAMBUESA (*Rubus idaeus*) MEDIANTE MICROPROPAGACIÓN, EN EL CANTÓN CEVALLOS, PROVINCIA TUNGURAHUA”. de la Carrera de Ingeniería Agronómica, considero que dicho Informe Investigativo cumple con los requerimientos metodológicos y aportes científico-técnicos suficientes para ser sometidos a la evaluación del Tribunal de Validación de Proyecto que el Honorable Consejo Académico de la Facultad Académica de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales de la Universidad Técnica de Cotopaxi designe, para su correspondiente estudio y calificación.

La Maná, agosto 2022



Ing. Espinosa Cunuhay Kleber Augusto MSc.  
C.I: 0502612740  
**TUTOR**

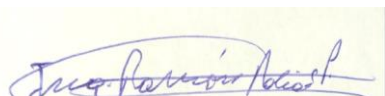
## APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN

En calidad de Tribunal de Lectores, aprueban el presente informe de investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi, y por la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, por cuanto la postulante: Ugsha Chaluza Eveling Liseth con el título de Proyecto de Investigación: “OBTENCIÓN DE PLANTAS IN VITRO DEL CULTIVO DE LA FRAMBUESA (*Rubus idaeus*) MEDIANTE MICROPROPAGACIÓN, EN EL CANTÓN CEVALLOS, PROVINCIA TUNGURAHUA”, han considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de sustentación del proyecto.

Por lo antes expuesto, se autoriza realizar los empastados correspondientes, según la normativa institucional.

La Maná, agosto del 2022


Para constancia firman:



MSc. Macias Pettao Klever Ramón.  
C.I:0910743285  
**LECTOR (PRESIDENTE)**



MSc. Quinatoa Lozada Eduardo Fabián  
C.I: 1804011839  
**LECTOR 1 (MIEMBRO)**



MSc. Ramírez Cruz Andrés Fernando  
C.I:0704827674  
**LECTOR 2 (SECRETARIO)**

## **AGRADECIMIENTO**

*A Dios, quien con su bendición me permitió salir de los obstáculos que se ha presentado en mi vida. A mis padres por el gran esfuerzo que tuvieron conmigo confiando y creyendo en mis expectativas. De igual manera mi agradecimiento a la Universidad Técnica de Cotopaxi, a toda la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, a nuestros Docentes, quienes con las enseñanzas de sus valiosos conocimientos hicieron que pueda crecer y formarnos día a día como profesionales, gracias a cada uno de ustedes por su dedicación, paciencia, apoyo incondicional y su amistad. Finalmente quiero expresar mis más grande y sincero agradecimiento al Ing. Eduardo Quinatoa y al Ing. Kleber Espinosa Cunuhay por su apoyo incondicional ya que fueron los pilares principales durante todo este proceso, quien con su conocimiento, paciencia, dirección, enseñanza y colaboración permitió el desarrollo de este trabajo investigativo.*

***Eveling***

## **DEDICATORIA**

*Este trabajo de investigación está dedicado a Dios que me ha bendecido con la vida y el amor propio, ha sido mi pilar, guía, fortaleza, mano fiel y con su amor me ha permitido culminar con responsabilidad, humildad y sabiduría una etapa más en mi vida y lograr esta meta tan esperada. A mis padres Manuelito y Elsita que con su sacrificio, paciencia, amor y esfuerzo me han permitido llegar a cumplir en este día una meta más, gracias por inculcarme el ejemplo del esfuerzo y valentía, de no temer a los obstáculos que se me presenten porque en nuestras vidas Dios está siempre guiándonos día a día.  
Dios me los bendiga.*

***Eveling***

# UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

## FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

**TÍTULO:** “OBTENCIÓN DE PLANTAS IN VITRO DEL CULTIVO DE LA FRAMBUESA (*Rubus idaeus*) MEDIANTE MICROPROPAGACIÓN, EN EL CANTÓN CEVALLOS, PROVINCIA TUNGURAHUA”.

**Autora:** Ugsha Chaluiza Eveling Liseth.

### RESUMEN

La investigación se realizó en el laboratorio de biotecnología “VITRO PLANTS”, que se encuentra ubicado en el Barrio San Fernando, en el Cantón Cevallos Provincia de Tungurahua, la frambuesa (*Rubus idaeus*), con el objetivo principal de obtener plantas in vitro del cultivo de la frambuesa mediante la micropropagación. La propagación in vitro del *Rubus idaeus* se realizó a partir de un esqueje vegetal al que llamamos explante nodales o microestacas, garantizando la calidad genética de los nuevos clones que pueden ser comercializados en viveros, o a nivel de laboratorio generando ingresos económicos para quienes desarrollan la venta de la frambuesa. De igual forma se procedió a preparar como tratamientos para la micropropagación medios de cultivo con sales de Murashige y Skoog, con diferentes reguladores de crecimientos como Bencilaminopurina, Kinetin, Ácido Giberélico y un testigo en el que no se adicionó ninguna hormona para llegar a determinar cuál de las hormonas es más eficaz, y así se evaluó las diferentes variables en estudio tales como la altura de brote(cm), número de hoja por explante, número de brotes formado por explante, número de hojas por brote formación de callo organogénico, el porcentaje de contaminación, largo de la raíz, largo de raíz por explante. Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA), con cuatro tratamientos y diez repeticiones, Además, se empleó la prueba de rangos múltiples de tukey al 5% de probabilidad, con un programa estadístico Infostat con los tratamientos T1 MS+AG3 (mg/L) +BAP(1mg/L), T2 MS+KN (mg/L) +AG3(0.25ml), T3 MS + BAP (mg/L), T4 MS (mg) testigo. Observando que el tratamiento T1 MS+AG+BAP fue muy efectivo para la frambuesa ayudando en el crecimiento y desarrollo de la planta cumpliendo un resultado efectivo en todas las variables evaluadas en el proceso in vitro, todo lo contrario, con el T2 MS+AG+KN.

**Palabras claves:** Frambuesa, in-vitro, hormonas, micropropagación, micro estacas, medios de cultivos.

## ABSTRACT

The research was carried out in the biotechnology laboratory "VITRO PLANTS" in Barrio San Fernando, in the Cevallos Canton, Province of Tungurahua, the raspberry (*Rubus idaeus*), with the main objective of obtaining in vitro plants of the raspberry crop through micropropagation. The in vitro propagation of *Rubus idaeus* is carried out from a plant cutting that is called nodal explant or micro stakes to guarantee the genetic quality of the new clones that can be marketed in nurseries or at the laboratory level, generating economic income for those who develop the sale of raspberries, it proceeded to prepare treatments for micropropagation culture media with Murashige and Skoog salts, with different growth regulators such as Benzylaminopurine, Kinetin, Gibberellic Acid, and a control in which no hormone added to determine which of the hormones is more effective, The different variables under study were evaluated such as shoot height (cm), number of leaves per explant, number of shoots formed per explant, number of leaves per shoot, organogenic callus formation, percentage of contamination, root length, root length per explant. A completely randomized design (CRD) was used, with four treatments and ten replications. In addition, the Tukey's multiple range test at 5% probability was used with an Infostat statistical program with the treatments T1 MS+AG3(mg/L) +BAP(1mg/L), T2 MS+KN (mg/L) +AG3(0.25ml), T3 MS + BAP (mg/L), T4 MS (mg) control. In conclusion, observed that the treatment T1 MS+AG+BAP was very effective for raspberry helping in the growth and development of the plant, achieving an effective result in all the variables evaluated in the in vitro process on the contrary, with T2 MS+AG+KN.

**Keywords:** Raspberry, in-vitro, hormones, micropropagation, micro cuttings, culture media.

## ÍNDICE GENERAL

DECLARACIÓN DE AUTORÍA.....	ii
AVAL DEL TUOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN .....	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN .....	iv
AGRADECIMIENTO .....	v
DEDICATORIA .....	vi
RESUMEN .....	vii
ABSTRACT.....	viii
ÍNDICE GENERAL .....	ix
ÍNIDE DE FIGURAS .....	xiii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiv
1. INFORMACIÓN GENERAL.....	1
2. DESCRIPCION DEL PROYECTO.....	2
3. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO.....	3
4. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO.....	4
5. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	5
6. OBJETIVOS .....	6
6.1. General.....	6
6.2. Específicos .....	6
7. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS .....	7
8. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA.....	8
8.1. Frambuesa ( <i>Rubus idaeus</i> L.).....	8
8.1.1. Generalidades.....	8
8.2. Descripción Botánica .....	8
8.2.1. Morfología .....	9
8.2.2. Raíz.....	9
8.2.3. Tallo.....	9
8.2.4. Hojas .....	9
8.2.5. Flores .....	9
8.2.6. Frutos .....	10
8.3. Situación del cultivo en el Ecuador .....	10
8.3.1. El cultivo de frambuesa en el Ecuador .....	10
8.3.2. Comercialización de frambuesa en el Ecuador.....	10

8.3.3. Superficie cultivada .....	11
8.3.4. Importancia Económica .....	11
8.3.5. Composición nutricional de la frambuesa.....	11
8.4.1. Suelo .....	12
8.4.2. Clima.....	13
8.4.3. Temperatura .....	13
8.4.4. Humedad.....	13
8.4.5. Polinización.....	13
8.4.6. Variedad floradade .....	14
8.5. ¿Qué es Biotecnología?.....	14
8.6. Agro Biotecnología .....	14
8.7. Aplicaciones de la biotecnología en vegetales.....	14
8.8. Cultivo de tejidos vegetales .....	15
8.9. Cultivo in vitro.....	15
8.10. Tipos de cultivo in vitro.....	16
8.10.1. Características generales del cultivo in vitro. ....	16
8.10.2. Cultivos desorganizados .....	16
8.10.3. Cultivos organizados.....	16
8.11. Cloro (Cl).....	16
8.11.1. Descripción .....	16
8.12. Medios de cultivo.....	17
8.12.1. Descripción .....	17
8.12.2. Murashige y Skoog .....	17
8.12.3. Phytamax .....	17
8.12.4. Woody Plant Medium.....	17
8.13. Reguladores de crecimientos .....	18
8.13.1. Bencilaminopurina (BAP).....	18
8.13.2. Ácido Giberélico (AG) .....	18
8.13.3. Kinetina (KN) .....	18
8.14. Edulcorantes y azúcares.....	18
8.14.1. Glucosa .....	19
8.14.2. Isoglucosa .....	19
8.14.3. Fructosa.....	19
8.14.4. Galactosa.....	19
8.14.5. Sacarosa .....	19

8.14.6. Lactosa .....	20
8.14.7. Maltosa .....	20
8.14.8. Isomaltosa .....	20
8.15. Gelificantes .....	20
8.15.1. Agar .....	20
8.15.2. Grenetina.....	21
8.15.3. Carragenina.....	21
8.15.4. Pectina.....	21
8.16. Vitaminas .....	21
8.17. Preparación de los medios de cultivos. ....	22
8.17.2. Medios sólidos .....	22
8.17.3. Medios semisólidos.....	22
8.18. Etapas de cultivo in vitro.....	22
8.18.1. Fase 0: Preparación de la planta madre .....	22
8.18.2. Fase 1: Desinfección del material .....	22
8.18.3. Fase 2: Introducción del material in vitro .....	23
8.18.4. Fase 3: Multiplicación.....	23
8.18.5. Fase 4: Enraizamiento .....	23
8.18.6. Fase 5: Aclimatación.....	23
8.19. Proyecto de la investigación realizado.....	24
9. HIPÓTESIS .....	26
10. METODOLOGÍAS .....	26
10.1. Localización del experimento .....	26
10.2. Condiciones agro meteorológicas .....	26
10.4. Medios de cultivo.....	28
10.5. Tratamientos .....	29
10.6. Diseño experimental .....	29
10.7. Esquema del experimento .....	29
10.9. Variables evaluadas .....	30
10.9.1. Porcentaje de contaminación.....	30
10.9.2. Supervivencia de explantes.....	30
10.9.3. Porcentaje de supervivencia .....	31
10.9.4. Longitud de brote (cm) .....	31
10.9.5. Número de hoja por explante.....	31
10.9.6. Número de brotes formado por explante .....	31

10.9.7. Número de hoja por brote .....	31
10.9.8. Presencia de callo.....	31
10.9.9. Largo de raíz (cm).....	32
10.9.10. Número de raíz por explante.....	32
10.10. Manejo de la investigación.....	32
10.10.1. Selección y preparación del explante de partida.....	32
10.10.2. Obtención del explante .....	32
10.10.3. Lavado y desinfección .....	32
10.10.4. Establecimiento del cultivo aséptico.....	33
10.10.5. Primera desinfección.....	33
10.10.6. Ingreso y desinfección de la cámara de flujo laminar.....	33
10.10.7. Establecimiento in vitro .....	34
10.10.8. Siembra del explante en el medio de cultivo (micro estacas).....	34
10.10.9. Fase de incubación a condiciones controladas.....	34
10.10.9.1. Número de explantes contaminados (NEC).....	34
10.10.9.2. Etapa de Multiplicación .....	34
11. RESULTADO Y DISCUSIÓN.....	35
11.1. Porcentaje de contaminación.....	35
11.2. Sobrevivencia de explantes.....	35
11.3. Longitud de brote (LB) cm .....	36
11.4. Número de hoja por explante (NHE) .....	37
11.5. Número de brotes formado por explante (NBF) .....	37
11.6. Número de hoja por brote (NHB).....	38
11.7. Presencia de callo (PC) .....	39
11.8. Largo de raíz (LR) cm .....	39
11.9. Número de raíz por explante (NRE).....	40
11.10. ANÁLISIS DE COSTO .....	40
12. IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES Y AMBIENTALES).....	41
13. PRESUPUESTO .....	42
14. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	43
14.2. Conclusiones .....	43
14.3. Recomendaciones.....	44
15. BIBLIOGRAFÍA .....	45
16. ANEXOS .....	51

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Actividades y sistema de tareas en relación a los objetivos planteados.....	7
Tabla 2: cantidad importada en toneladas.....	10
Tabla 3: Composición nutricional de la frambuesa .....	12
Tabla4: Condiciones agro meteorológicas del cantón Cevallos. ....	26
Tabla 5: bajo condiciones controladas dentro del laboratorio .....	27
Tabla 6: Materiales y equipos .....	27
Tabla7: Medio de cultivo y reguladores de crecimiento para un litro de solución, establecimiento.....	28
Tabla 8: Medio de cultivo y reguladores de crecimiento para un litro de solución, multiplicación.....	28
Tabla 9: Tratamientos de la investigación .....	29
Tabla 10: Esquema del experimento.....	30
Tabla 11: Análisis de varianza .....	30
Tabla12: Resultado de contaminación por tratamiento a los 45 días.....	36
Tabla 13: Resultado del número de longitud de brote (LB) cm a los 45 días.....	36
Tabla 14: Resultado del número de hoja por explante (NHE) a los 45 días. ....	37
Tabla 15: Resultado de los números de brotes formados por explante NBF a los 45 días.....	38
Tabla 16: Resultado de los números de hoja por brote NHB a los 45 días.....	38
Tabla 17: Resultado del largo de la raíz LR a los 45 días.....	39
Tabla 18: Resultado del número de raíz por explantes NRE a los 45 días .....	40
Tabla 19: Análisis de costos .....	41
Tabla 20: presupuesto de costos .....	42

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Contaminación.....	35
------------------------------	----

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Curriculum del tutor .....	51
Anexo 2: Curriculum del estudiante investigador.....	52
Anexo 3: Contrato de cesión no exclusiva de derecho de autor .....	53
Anexo 4: Certificado de Urkund.....	56
Anexo 5: Aval de traducción del idioma ingles.....	57
Anexo 6: Preparación del material vegetativo de partida de la frambuesa ( <i>Rubus idaeus</i> )......	58
Anexo 7: Fase de esterilización del material vegetativo de partida.....	58
Anexo 8: Fase de introducción in vitro.....	60
Anexo 9: Fase de multiplicación de la frambuesa .....	60
Anexo 10: Fotografías de los diferentes tratamientos. ....	62
Anexo 11: Toma de datos de las variables evaluadas.....	62

## 1. INFORMACIÓN GENERAL

<b>Título del Proyecto:</b>	Obtención de plantas in vitro del cultivo de la frambuesa ( <i>Rubus idaeus</i> ) mediante micropropagación, en el Cantón Cevallos, Provincia Tungurahua
<b>Fecha de inicio:</b>	Abril 2022
<b>Fecha de finalización:</b>	Agosto 2022
<b>Lugar de ejecución:</b>	Cantón Cevallos, Barrio San Fernando, Provincia Tungurahua
<b>Unidad Académica que auspicia:</b>	Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales
<b>Carrera que auspicia:</b>	Ingeniería Agronómica
<b>Proyecto de investigación vinculado:</b>	Al sector Agrícola
<b>Equipo de Trabajo:</b>	MSc Ing. Kleber Augusto Espinosa Cunuhay Director del proyecto MSc Ing. Eduardo Fabian Quinatoa Lozada Docente Investigador Responsable Srta. Ugsha Chaluzza Eveling Liseth
<b>Área de Conocimiento:</b>	Agricultura, Silvicultura y pesca
<b>Línea de investigación:</b>	Desarrollo y Seguridad Alimentaria
<b>Sub líneas de investigación:</b>	Tecnología para la agricultura

## 2. DESCRIPCION DEL PROYECTO

La Frambuesa (*Rubus idaeus*) pertenece a la Familia de las Rosaceas, es la fruta exótica más importante en el cultivo de la serranía formado por varias drupas. Se consume a nivel mundial en innumerables formas, tanto frescas como procesadas. En el Ecuador, la frambuesa era muy poco conocida, hasta los años 80 aproximadamente; puesto que, la mora castilla, es la fruta que se solía producir para el consumo local. Pero a finales de esta década, de Norte América, se introdujeron a nuestro país variedades de frambuesa, las cuales tuvieron excelente adaptación y para los años 2002 y 2003 en el enfoque principal fue la exportación de esta fruta, ya que a nivel nacional el consumo no justificaba la venta de la misma, (Mantilla, 2016).

Según Pajuña (2016) menciona que en Estados Unidos se ha dado luz verde para importar frambuesas y moras de Ecuador, las frambuesas deben cumplir con requisitos fitosanitarios y certificados emitidos por el gobierno ecuatoriano. Actualmente la producción de frambuesa ecuatoriana se produce en pequeña escala, principalmente por la falta de agricultores que se especialicen en el cultivo de esta planta, ya que es una fruta muy delicada y su cultivo requiere mucha experiencia y calidad y rigor control de plagas para poder cultivar en grandes cantidades

La micropropagación como técnica consiste en la producción de un número determinado de plantas idénticas a partir de un mismo explante, también se facilita el manejo de plantas libres de enfermedades fungosas, bacterianas y virales. El cultivo In vitro de tejidos para la micropropagación es una técnica en la totipotencia de la célula vegetal y su capacidad regenerativa. El procedimiento consiste en tomar explantes generalmente en estado vegetativo de tejido joven, sano y de buena apariencia, apropiados y propiciar su crecimiento en un medio de nutrientes necesarios para su desarrollo, se incuba bajo condiciones de luz, temperatura y humedad controladas.

Por este motivo la presente investigación, se realizó en el laboratorio “Vitro plants” que se encuentra ubicado en el Cantón Cevallos, Provincia de Tungurahua, la cual se basó en la micropropagación del cultivo de la frambuesa (*Rubus idaeus*) con diferentes medios de cultivos, por lo cual se estableció como la micropropagación para realizar la multiplicación del frambueso, los pasos realizados fueron una selección de las plantas madres las misma que deben estar en las mejores condiciones de sanidad, bien nutridas, con características de producción

altas, seguido a esto realizamos la desinfección con un fungicida llamado propamocarb 1 ml por litro del tejido sano llamado explantes nodales o microestacas que o los mismos que en la fase de establecimiento o introducción al laboratorio se realizó una desinfección con alcohol al 70% durante 5 min y cloro comercial al 70% durante 10 minutos con enjuagues sucesivos utilizando agua destilada previamente esterilizada y con la ayuda de una cabina de flujo laminar para garantizar la asepsia. Una vez desinfectado las microestacas se introduce en un medio de cultivo con sales minerales de Murashige y Skoog, vitaminas y reguladores de crecimientos Bencilaminopurina más Ácido Giberélico y como gelificante Agar en frascos de vidrio y colocados en condiciones ambientales controladas.

La fase de multiplicación se realizó una vez que las microestacas hayan emitido los brotes necesarios. De igual forma se procedió a preparar como tratamientos para la micropropagación medios de cultivo con sales de Murashige y Skoog, con diferentes reguladores de crecimientos como Bencilaminopurina, Kinetin, Ácido Giberélico y un testigo en el que no se adicionó ninguna hormona para determinar cuál de las hormonas es más eficaz, por lo tanto se evaluaron las diversas variables examinadas como la altura de brote(cm), numero de hoja por explante, numero de brotes formado por explante, formación de callo organogénico y los números de explantes contaminados; llegando así a la fase de enraizamiento.

### **3. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO**

La importancia del uso del frambueso, las hojas y los frutos son diversos para obtener productos de calidad tanto en la gran industria como en la artesanía como en la elaboración de salsas, vinagre, mermeladas, yogures, helados, licores y productos aromatizados, en el sector industrial su importancia es muy alta con el 90% de la producción mundial de frambuesa se dedica a este uso, principalmente en el uso de la elaboración de zumos concentrados así como en la fitoterapia , farmacología y medicina, (Rubio & Gonzales, 2018).

El método para obtener una buena calidad de planta de frambueso es con el sistema de brotes etiolados, plantas madres de calidad idealmente para un cultivo in vitro, que asegure calidad sanitaria y genética de donde se obtiene las raíces para iniciar una propagación las mismas que son desinfectadas en una solución al 5% de cloro comercial por 10 minutos, (Flores C. , 2021).

La práctica de cultivo de tejidos vegetales se desarrolló con el objetivo de propagar un gran número de plantas que tengan las mismas características de la planta madre y estén libres de todo tipo de patógenos y enfermedades vegetales preexistentes. La propagación in vitro de *Rubus idaeus* se realizó a partir de esquejes vegetales, al que llamamos explante o microestacas, para asegurar la calidad genética de nuevos clones que se puedan ser vendidos a nivel de vivero o laboratorio y a quienes cultivan y comercializan frambuesas, generando ingresos económicos, (Cayo & peralta, 2021).

Por esta razón el procedimiento se consistió en el cultivo aséptico del meristemo apical de la planta madre en un medio de cultivo artificial; luego se estimula la reproducción y producción de plantas agregando reguladores de crecimiento al medio de cultivo.

Se justifica esta investigación porque, se realizó una micropropagación de frambuesa (*Rubus idaeus*), in vitro que se reduzcan las pérdidas económicas a los agricultores al obtener plantas en viveros susceptibles a plagas y enfermedades este método permite obtener plantas con mejor genética, resistencia e incluso reducir costos de producción.

#### **4. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO.**

##### **Beneficiarios Directos:**

Los beneficiarios directos con este proyecto son los pequeños y medianos agricultores a nivel nacional, en especial aquellos que están interesados en la producción de la frambuesa, ya que a través de ella pueden incrementar la productividad de sus fincas o parcelas y reducir sus pérdidas económicas las cuales están propensas a plagas y enfermedades y ampliar el conocimiento mediante la propagación in vitro dando como resultado plantas con alta calidad genética de nuevos clones.

##### **Beneficiarios Indirectos:**

Este proyecto de investigación se benefició indirectamente a los estudiantes de la Universidad Técnica de Cotopaxi y a los docentes del departamento de Agronomía, permitiéndoles adquirir mayores conocimientos a través de los resultados obtenidos y por ende a través de la micropropagación in vitro con explante de plantas jóvenes.

## 5. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.

Actualmente existen dos cruces de *Rubus idaeus* con las especies americanas *Rubus occidentalis* se ha obtenido una mejor variedad para la producción de fruto la frambuesa amarilla que se adapta fácilmente a zonas húmedas. El frambueso se indica que las principales provincias productoras de este producto son Bolívar 39%, Carchi 3%, Cotopaxi 20%, Chimborazo 1% y Tungurahua 33%, siendo la participación del total de producción de frambuesa en el Ecuador, (INIAP, 2018).

Uno de los mayores problemas en el cultivo de la frambuesa es el manejo de plagas (MIP), las plagas más comunes que afectan al fruto son la roya (*Pucciniastrum americanum*), pudrición o moho gris (*Botrytis cinerea*), la agalla de la corona (*Agrobacterium tumefaciens*), la marchitez (*Verticillium spp*), podredumbre del cuello y raíces (*Phytophthora*), oídio (*Sphaeroteca macularis*), (Agro, 2019).

La propagación del frambueso se lleva de manera sexual como asexual, sin embargo, la reproducción por semilla no se puede practicar debido a su dificultad, su alto costo y no presentar caracteres de sus progenitores que se presentan con nuevas variedades y no todas producirán una planta. En la reproducción asexual se la puede realizar por esquejes, estacas o acodos, cabe mencionar que por este método la transmisión de enfermedades desde la planta madre a sus hijas es inevitable, como también el porcentaje de prendimiento de las estacas o acodos es bajo.

El costo de las plántulas de la frambuesa en pequeños viveros ha incrementado, sumada a la mala calidad que muchas de las veces hacen que los rendimientos sean bajos.

Por esta razón nos planteamos como objetivo general obtener plantas in vitro del cultivo de frambuesa (*Rubus idaeus*) como solución a los problemas antes mencionados, para contribuir con una técnica eficiente para los agricultores dedicados a este cultivo.

## **6. OBJETIVOS**

### **6.1. General**

Obtener plantas in vitro del cultivo de la frambuesa (*Rubus idaeus*) mediante micropropagación.

### **6.2. Específicos**

- Estandarizar el método para la desinfección de explantes de la frambuesa
- Identificar el medio de cultivo adecuado para la multiplicación in vitro de la frambuesa.
- Establecer los análisis de costos de los tratamientos en fase de establecimiento y multiplicación in vitro de la frambuesa.

## 7. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS.

**Tabla 1:** Actividades y sistema de tareas en relación a los objetivos planteados

<b>Objetivos</b>	<b>Actividad</b>	<b>Resultado de la actividad</b>	<b>Descripción de la actividad (técnicas e instrumentos)</b>
Estandarizar el método para la desinfección de explantes de la frambuesa	*Realizar mediante soluciones de hipoclorito de sodio al 70 % y el alcohol al 70%	*Porcentaje de contaminación	*Frascos contaminados. *Libreta
Identificar el medio de cultivo adecuado para la multiplicación in vitro de la frambuesa.	*Preparación de medios de cultivo *Esterilización de los medios de cultivos *Multiplicación.	*Porcentaje de contaminación. *Sobrevivencia de explantes *Altura de brote (cm) *Número de brotes por explante. *Presencia de callo. *Longitud de brote. *Número de hoja por explante.	*Frascos contaminados. *Libreta de apuntes. *Cámara.
Establecer los análisis de costos de los tratamientos en fase de establecimiento y multiplicación in vitro de la frambuesa.	*Conocer los costos de producción de los tratamientos en el estudio.	*Indicadores de relación costo.	*Análisis de costo.

Elaborado por: Ugsha (2022).

## **8. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA**

### **8.1. Frambuesa (*Rubus idaeus* L.)**

#### **8.1.1. Generalidades**

La especie *Rubus rosifolius* es originaria del Himalaya, Asia occidental y Australia, pertenece a la familia de las rosáceas entre otras especies importantes en la agronomía como la mora, arándano, grosella, frutilla. Frutos pequeños y delicados que requieren cuidadosos procedimientos de postcosecha. Para su crecimiento óptimo permanece con un pH de 6.5, es importante mantener el suelo húmedo, el exceso de agua es perjudicial por lo que se estresa con encharcamientos y es importante controlar el drenaje, (Solis, 2019).

La edad media que puede durar el cultivo de la frambuesa en el campo es de 10 a 20 años con altas cantidades de materia orgánica como el estiércol y la paja es fundamental para que el cultivo sea exitoso por ello es importante comprobar las condiciones del suelo para iniciar el cultivo y en cuanto a sus necesidades de luz, puede crecer en lugares expuestos al sol o protegido con una semisombra a una temperatura que puede soportar varía entre -1°C a -7° C la temperatura alta influye a la fotosíntesis y a la floración, (Solis, 2019).

#### **8.2. Descripción Botánica**

Según, Castro (2010) menciona que la frambuesa perteneciente a la subclase Arquiclamídea, familia de las Rosaceas, orden de los Rosales y al género *Rubus*. Existen diferentes especies e híbridos de interés comercial, entre los más populares se encuentran la mora (*R. constrictus*), la zarzamora (*R. ulmifolius*), la mora inerme (*R. canadensis*), la mora espinosa (*R. argutus*), la frambuesa purpura (*R. neglectus*), la frambuesa negra (*R. Occidentales*), la frambuesa amarilla (*R. ellipticus*) y la frambuesa roja (*R. idaeus*).

La frambuesa roja es una dicotiledónea, estoloníferas de tallo erecto con espinas curvas vigorosas y pequeñas la duración del tallo es bianual que pueden alcanzar una altura mayor a los dos metros. Durante el primer año de su desarrollo es de la diferenciación de yemas florales y durante el segundo año florecen y fructifican, muriendo después de la maduración de los frutos. Las hojas son sencillas, alternas, compuestas y estipuladas, formadas por 5 a 7 folíolos ovalados y dobles aserradas de color verde en el inferior e intenso en la superior. Presentan vellosidad algodonosa. Sus flores son terminales y axilares, las yemas florales y los peciolos

están cubiertos por un fino vello no glandular y espinas. Son perfectas con cuatros o cinco pétalos de color blanco o rosados, son hermafroditas y estipuladas con cáliz pubescente los estambres se encuentran en la base del receptáculo débil por lo que se desprende con facilidad, (Bonomeli, 2015).

### **8.2.1. Morfología**

Se trata de un arbusto perenne, de unos 40 a 60 cm de altura con flores caducas. Los órganos vegetativos y fructíferos sirven para mantener la vida del individuo y se diferencian en raíz, tallo, hoja y en órganos fructíferos incluyen flores, semillas y frutos, (Nastic, 2021).

### **8.2.2. Raíz**

Con una simetría radial, perenne y bien desarrollada, absorbiendo agua, minerales disueltos del suelo, estableciendo la planta en el suelo, sirve para almacenar materia orgánica y para la propagación vegetativa por esquejes de raíz de frambuesa roja, (Nastic, 2021).

### **8.2.3. Tallo**

Se presentan un tallo subterráneo y corto con una duración de dos años por lo general el primer año es su desarrollo vegetativo presentando una epidermis gris amarillenta con nudosidades débiles. El segundo año, requieren de una epidermis gris cubierta de espinas en la cual florecen y fructifican después de la maduración de sus frutos siendo reemplazados por nuevos con las espinas en tallos y brotes de frambueso, (Nastic, 2021).

### **8.2.4. Hojas**

Se representan con hojas compuestas, imparipinnadas de 3 a 7 foliolos cuyas características son ovales, alargados, acuminados de color verde por el haz y blanquecinos aterciopelados por el envés el raquis es provisto de espinas, (Nastic, 2021).

### **8.2.5. Flores**

Su inflorescencia en racimo terminal de hasta 10 flores pequeñas de color blanco verdoso o rosado y están provistas de un pedúnculo largo y espinoso, compuesto por cinco sépalos largos y cinco pétalos caducos, cada pistilo contiene un ovario que encierra un ovulo en la cual se desarrolla una pequeña drupa teniendo un núcleo muy pequeño, (Nastic, 2021).

### 8.2.6. Frutos

El fruto es pequeño de forma cónica y aspecto aterciopelado, la frambuesa está formado por numerosas drupas que se caracteriza por su forma convexa y deprimida, su textura rugosa provista de un filamento amarilla. El color más común es el rojo o amarillento, blancos y negros y su sabor es agridulce, (FAO, 2016).

## 8.3. Situación del cultivo en el Ecuador

### 8.3.1. El cultivo de frambuesa en el Ecuador

Según Mantilla (2016), menciona que la frambuesa en castellano por el francés *frambolse*, una voz de origen germánico brambazia zarzamora y para su distribución en cada país posee leyes y normativas para permitir o prohibir el ingreso de productos de países exportadores se considera el grado, calidad, tamaño, nivel de maduración. El mundo está cambiando sus hábitos alimenticios y se ha aumentado por los alimentos naturales, sanos y saludables Whole Foods Market cuenta con una cadena de 32 establecimientos la mayoría en Estados Unidos, algunas sucursales en Reino Unido y Canadá de acuerdo a las importaciones mundiales en toneladas en el periodo 2012- 2016 se presenta un incremento anual, tal como lo detallo en el siguiente cuadro. Tabla 2

**Tabla 2:** cantidad importada en toneladas.

<b>Países Importadores</b>	<b>2012</b>	<b>2013</b>	<b>2014</b>	<b>2015</b>	<b>2016</b>
Estados Unidos	41,999,00	52,658,00	60,9169,00	69,369,00	83,164,00
Canadá	22,788,00	24,456,00	28,999,00	33.061,00	38,067,00
Alemania	18,999,00	17,756,00	15,825,00	18,497,00	16,057,00
Reino Unido	13,552,00	13,125,00	10,167,00	12,034,00	13,981,00
Países Bajo (Holanda)	11,380,00	3,895,00	15,943,00	10,498,00	8,164,00
Austria	15,792,00	10,459,00	8,164,00	8,999,00	6,099,00

Fuente: (Mantilla, 2016)

### 8.3.2. Comercialización de frambuesa en el Ecuador

El consumo de la frambuesa, al igual que otras f rutas pequeñas, están aumentando significativamente en el mercado cada año debido a su precio, apuntando a un segmento de la población con expectativa de vida media y alta, reduciendo el nivel de consumidores potenciales. Por eso, las unidades que se venden en el mercado son frescas y pequeñas. Las

grandes cadenas de supermercados son abastecidas por organizaciones productoras o empresas especializadas en frutas del bosque. El resto de la cadena de distribución la proporciona principalmente la red del mercado central, en la mayoría de los casos se utilizan cajas de plástico o cartón, con un peso máximo de 5kg, para que la fruta no se triture antes de congelarla. En caso de que la fruta ya este congelada se presentan en bolsitas de plásticos o cajas de cartón de peso según el cliente que se varían entre 5-20kg, (Rubio J. , 2018).

### **8.3.3. Superficie cultivada**

Las características óptimas para un buen desarrollo fisiológicos y productivo de la frambuesa se encuentran en zonas de 14 y 19°C aunque también se producen a temperaturas mayores y menores pero con rendimientos considerablemente menores, el azote constante del viento pueden dañar los retoños delos tallos fructíferos y una fuerte deshidratación de los tejidos herbáceos, los rebrotes pueden doblarse, rozarse y provocar daños o heridas en la corteza, es rica en materia orgánica, de preferencia franco arenoso, franco y franco arcilloso, con un pH de 6 a 6.5, con una precipitación a nivel mar de 900 a 1,500. La profundidad efectiva del suelo debe ser de 100cm o más a fin de facilitar un gran desarrollo radicular y vegetativo, (Aguas, 2008).

### **8.3.4. Importancia Económica**

La plantación de la frambuesa en fresco se espera que la productividad sea de 8,0 toneladas y la producción se divide en un 20% de exportación en fresco, un 65% en IQF simple y un 15% en pulpa congelada. El precio IQF es de 1,5 kg para Blog 0,8kg y para pulpa 0,5kg, donde se requiere más cuidado ya que el producto es muy sensible al daño y la maduración, (INIA, 2020).

### **8.3.5. Composición nutricional de la frambuesa**

El frambueso posee importantes nutrientes como la vitamina C, útil para la absorción de hierro además que contiene una amplia variedad de antioxidantes como quercetina, miricetina y ácido elagico que desempeñas una fuente importante en la prevención de enfermedades cardiovasculares y ciertos tipos de cáncer. La frambuesa tiene una fuente de fibra muy buena que atribuyen propiedades diuréticas: Bajo en grasa, excelente fuente de fibra, libre de sodio y excelente fuente de vitamina C.

**Tabla 3:** Composición nutricional de la frambuesa.

<b>Componentes por cada porción 100 g de frambuesas frescas</b>		
<b>Factores nutricionales</b>	<b>Valores</b>	<b>Unidades</b>
Energía	222	kj
	55	kcal
Proteína	1,6	g
Grasa	0,80	g
Grasa saturada	0,022	g
Grasa poliinsaturada	0,450	g
Grasa monoinsaturada	0,066	g
Colesterol	0	mg
Carbohidratos	12,26	g
Fibra	7,1	g
Azúcar	4,3	g
Sodio	1	mg
Potasio	157	mg
Fibra dietética	7,1	g
Vitamina A	2,5	uer
Vitamina C	29,1	mg
Vitamina E	1,2	mg et
Ácido fólico	24,0	ug
Calcio	27,2	mg
Hierro	0,6	mg

Fuente: (Nutrición, 2022)

## **8.4. Requerimientos edafoclimáticos**

### **8.4.1. Suelo**

Los suelos de los frambuesos llevan una textura arenosa o franco arenoso profundo y con buen drenaje, bien preparado, retenedor de agua y rico en materia orgánica ligeramente con un pH ácido de 6,0 o inferior ya que la planta es muy sensible, (FAO, 2014).

#### **8.4.2. Clima**

La frambuesa no soporta a climas de verano, las variedades dicotiledóneas son muy sensibles. Se adapta a climas templados con periodos de inviernos definidos de 5°C a 20°C, (Predrag, 2021).

#### **8.4.3. Temperatura**

El *Rubus idaeus* es tolerante a veranos frescos y bajas temperaturas entre 14°C y 19°C es afecta la fotosíntesis y el crecimiento, su baja temperatura depende de la floración, se necesitan de 700 a 1,200 horas de frio en invierno. Los brotes de la frambuesa se pueden congelar a temperaturas de -18°C a -26°C, según el estado fisiológico y la variedad. El sistema radicular se congela a temperaturas de -12°C a -14°C, (Predrag, 2021).

#### **8.4.4. Humedad**

Las frambuesas no toleran las sequias, para la producción se ubican en regiones semihúmedas y húmedas, donde la precipitación supera los 800 mm y la humedad se distribuye adecuadamente durante el ciclo vegetativo. La falta de humedad del suelo y del aire reduce la calidad de la fruta, el número de brotes, el crecimiento de las raíces y su crecimiento. La frambuesa crece en suelos bien drenados y con alta capacidad hídrica cuando se ubica cerca de bosques que le brindan frescura, humedad favorable y circulación de aire, el agua subterránea no debe estar a menos de 1m, (Predrag, 2021).

#### **8.4.5. Polinización**

Polinización anemófila por viento, porque la polinización de la frambuesa es abundante y ligera, pero más importante es la polinización entomófila (insectos), que son principalmente abejas y abejorros, porque es atractiva por la polinización abundante y melífera. Durante el período de floración, se pueden formar 4 a 6 colmenas por hectárea. Por otro lado, el botón cerrado puede soportar temperaturas de hasta -1 °C, 5 °C y tanto la flor abierta como el fruto recién cuajado hasta -0,5 °C, (Lopez, 2019).

#### **8.4.6. Variedad floradade**

Actualmente las variedades se pueden agruparse según la forma de fructificar en dos categorías: Variedades remontantes o reflorecientes; que se dan dos cosechas al año, una a principio de verano y la otra al final del año y las más utilizadas son: Autumn Bliss, Zeva Remontante, Heritage, Lloyd George. Variedades no remontantes o no reflorecientes: solo fructifican una vez al año que se forma en el verano y las más utilizadas tenemos: Delmes, Malling Leo, Meeler, Willamette, Malling Promise, Schoenemann, (fruticola, 2020).

Dr. Chad Finn, obtentor del Servicio de Investigación Agrícola de los Estados Unidos, es una frambuesa kokanee primocanos de frutos rojos que es adecuada como una variedad de diferentes colores según el gusto y el color debido a su excelente sabor y excelentes cualidades para comer. La variedad Kokanee tiene frutos de tamaño mediano con un peso promedio de 3,3 g, las bayas tienen un color rojo fresco, con un rendimiento de 2,3kg por planta a través de una temperatura de los 28°C, (Dover, 2017).

#### **8.5. ¿Qué es Biotecnología?**

La biotecnología se refiere a la aplicación de tecnologías de los organismos vivos con una manipulación deliberada de la información genética o al mejoramiento de una especie. La biotecnología posee muchas ramas de estudios que resulta ventajosa para condiciones especiales entre los que más destacan son: Biotecnología médica; industrial; agrícola y farmacéutica, (Guatapi & Calderon, 2020).

#### **8.6. Agro Biotecnología**

Perspectivas de investigación y nuevos enfoques de la sostenibilidad. El grupo agrobiotecnología responde a la sociedad agraria con sus conocimientos en fisiología, patología, microbiología de suelos, biología molecular y de productos naturales, y química orgánica., (Lastra, 2019).

#### **8.7. Aplicaciones de la biotecnología en vegetales**

Al contrario de los cultivos tradicionales es modificar las plantas de insectos, enfermedades y malas hierbas. También incorporan la mejora de calidad como frutas y legumbres más sabrosas, ventajas para el procesado y el aumento del valor nutritivo. Las tecnologías desarrolladas son

métodos de aislamiento de células, tejidos y órganos de plantas en condiciones controladas in vitro, (Pronac, 2018).

La biotecnología en la agricultura logra muchos beneficios en diversas vías de investigación, como a obtención de plantas y cultivos más resistentes a insectos, plagas y enfermedades, la tolerancia a los herbicidas también permite tener cultivos más saludables con alto valor nutricional, obtienen cultivos tolerantes a ciertos metales como el aluminio en el suelo y desarrollan cultivos modificados genética y transgénica, (Guatapi & Calderon, 2020).

### **8.8. Cultivo de tejidos vegetales**

Los cultivos vegetales contienen todos los nutrientes requeridos para el crecimiento y desarrollo normal de las plantas y están compuestos principalmente por macro nutrientes, micronutrientes, vitaminas, compuestos reguladores de crecimiento, fuente de carbono en el caso de los medios de cultivos solidos con Murashige y Skoog el medio más usado para la propagación vegetativa in vitro empleados para el crecimiento de células diferenciadas de plantas (callos) el Ph entre 5 y 5.8 es importante para el crecimiento. Las fitohormonas desempeñan un papel importante en la determinación de desarrollos de las células vegetales durante el cultivo in vitro. Las altas concentraciones de auxinas favorecen la formación de las raíces, mientras que las citocinas promueven la regeneración de brotes. Un balance de auxina y citocinina lleva el desarrollo de una masa desdiferenciada de células llamadas callo. Finalmente, la colocación de explante en el medio de cultivo se lleva bajo condiciones asépticas, usando una cabina de flujo laminar, las células del callo se consideran como totipotencias por su habilidad para regenerar una planta completa, (Rubio M. M., 2020)

### **8.9. Cultivo in vitro**

De acuerdo con Castillo (2019) consiste en cultivar plantas dentro de un frasco de vidrio en un ambiente artificial, la micropropagación o propagación clonal, es una de las aplicaciones más generalizadas en el cultivo in vitro, a partir de un fragmento o explante de una planta madre se obtiene plantas genéticamente idénticas denominadas clones. Los frascos que contienen las plantas son ubicados en estantería con luz artificial dentro de una cámara de crecimiento, donde los valores se oscilan entre los 21°C y 23°C. Un medio de cultivo compone una mezcla de sales minerales, vitaminas reguladoras de crecimiento, azúcar, agua y agar. Los factores biológicos que afectan en el cultivo in vitro son: ambiente físico: Luz, fotoperiodo, humedad y temperatura; y el ambiente químico: Composición del medio de cultivo y pH.

Dentro de un proceso de micro propagación existen diferentes etapas o fases: Selección y preparación de la planta madre, desinfección de las yemas de la planta o desinfección de las semillas, introducción del material seleccionado in vitro, multiplicación, enraizamiento y aclimatación. Las presentes etapas o fases se abarcan al ciclo completo de las plantas in vitro para el proceso de propagación, (Castillo A. , 2019).

## **8.10. Tipos de cultivo in vitro.**

### **8.10.1. Características generales del cultivo in vitro.**

Posibilita las manipulaciones, necesidad de reestablecer el equilibrio del explante sus requerimientos exigentes, Cultivo aislado biótico (ausencia de los microorganismos) y abiótico (viento), Ocupa pequeñas superficies, Control de condiciones de los cultivos en el ambiente como la temperatura, humedad, luz, las nutriciones y los minerales.

Se clasifican en dos grupos vegetales cultivados de in vitro, (T, Hartmann, E.Kester, & Davies, 2016).

### **8.10.2. Cultivos desorganizados**

Pueden ser cultivos de una o más células o incluso de diferentes orgánulos celulares y se denominan cultivos no organizados. Cultivo de células indiferenciadas unidas llamadas callos, agregados celulares (clusters), células aisladas, microsporas, protoplastos, organelos celulares, (T, Hartmann, E.Kester, & Davies, 2016).

### **8.10.3. Cultivos organizados**

Podemos tener cultivos de semillas, fragmentos de órganos o tejidos. Por ejemplo, para el cultivo de puntas de meristemas (bases de tallos), cultivos de nódulos, embriones cigóticos, así como esquejes de raíces con y sin ápice, (T, Hartmann, E.Kester, & Davies, 2016).

## **8.11. Cloro (Cl)**

### **8.11.1. Descripción**

El cloro con un carácter asfixiante se descubre que decolora muchos pigmentos vegetales, lo que reduce el desprendimiento de vapores tóxicos desinfectándoles para lo cual se puso a prueba con el blanqueo de tejidos utilizando una disolución de cloro con agua, dando resultado un buen manejo y eficaz al producto, como elemento químico del número atómico 17 del grupo de los

halógenos el estado puro forma un dicloro un gas tóxico amarillo verdoso formado por moléculas diatómicas ( $\text{Cl}_2$ ). El cloro se obtiene por electrolisis en un proceso de preparación de álcalis y se expande en forma líquida  $4\text{HCl} + \text{MnO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O} - \text{MnCl}_2 + (x+2) \text{H}_2\text{O} + \text{Cl}_2$ , (Health, 2019).

## **8.12. Medios de cultivo**

### **8.12.1. Descripción**

Se definen principalmente por sus propiedades químicas y físicas, por ejemplo: situación, salinidad. La mayoría de los medios culturales llevan el nombre de la persona que los creó, otros surgen de cambios en los medios genéricos, (FAO b. A., 2016).

### **8.12.2. Murashige y Skoog**

El medio de Murashige y Skoog (MS) es el más conocido tomando como modelo el cultivo in vitro en tabaco siguiendo un procedimiento cuantitativo llevando las concentraciones más adecuadas por los nutrientes. El MS es de amplia utilidad ya que se caracteriza por tener una alta concentración salina excepto en las más sensibles a la salinidad en otros casos puede recurrirse a otros medio o solo utilizarlo diluido, (Ortega, 2014).

### **8.12.3. Phytamax**

El medio de cultivo Phytamax tiene una solución de 50% de una combinación de ácido naftalenacético (ANA) y el 50% de benciladenina (BA) ambos reguladores de crecimiento vegetal, (Decelis, 2013).

### **8.12.4. Woody Plant Medium**

El medio de cultivo Woody Plant Medium (WPM) originalmente hecho por Lloyd y McCown en 1981 para un cultivo de brotes utilizados para la propagación de muchas plantas leñosas. La formulación es una mezcla de nutrientes inorgánicas, sales, vitaminas, aminoácidos y carbohidratos. WPM proporciona todo lo esencial con macro elementos y micro elementos, dihidrógeno de potasio donde el fosfato ayuda como fuente mientras que el calcio de nitrato proporciona nitrógeno a la planta. Microelementos como el boro, el manganeso, el hierro, el molibdeno y el zinc cumplen con el metabolismo de las plantas. El ácido nicótico actúa como factor enzimático que incluyen el glucólisis y el ciclo TCA. Cuando el producto se somete a

pruebas de tejidos vegetales el único que garantiza la idoneidad del medio para especies individuales, (Plantigen, 2017).

### **8.13. Reguladores de crecimientos**

#### **8.13.1. Bencilaminopurina (BAP)**

Las citoquininas de la familia BAP estimulan la división celular, la brotación lateral, inducen cambios metabólicos, la fructificación y la floración, y previenen la senescencia de las plantas. Son un grupo de hormonas vegetales que promueven la diferenciación y división celular, inician el proceso de formación de órganos y transforman completamente esta hormona en una planta, sin ser artificial. Características de la Bencilaminopurina:

Induce el crecimiento de capullos en dormancia, estimula el crecimiento y elongación de las células, promueve la germinación y la formación de botones florales, el crecimiento de las frutas, induce la formación de tubérculos y es recomendable hacer una premezcla antes del uso de un fertilizante o plaguicida agrícola, (Herandez & Herrera, 2013).

#### **8.13.2. Ácido Giberélico (AG)**

Ácido Giberélico o giberelina (A3, AG, AG3) es una fitohormona, polvo cristalino de color blanco a amarillo pálido, soluble en etanol y agua. Los ácidos y sus efectos en el desarrollo de las plantas, como el crecimiento del tallo, la división mitótica en las hojas y el aumento de la germinación de las semillas, (IUPAC, 2020).

#### **8.13.3. Kinetina (KN)**

Una fitohormona de citoquinina de tipo adenina utilizada en los medios de cultivos como regulador de crecimiento de cultivos de tejidos vegetales como los medios de Murashige y Skoog juntos con las auxinas, además, es utilizada para inducir la formación de callos para regenerar tejidos de plantas a partir de callos. La temperatura de almacenamiento es de -20°C su apariencia es de color blanco a amarillo claro y su forma en polvo, (Overbeek, Conklin, & Blakeslee, 2016).

### **8.14. Edulcorantes y azúcares**

Es una amplia gama que varían en dulzura como la sacarosa, lactosa, galactosa, fructosa, glucosa, maltosa. Se encuentran en productos naturales como el lácteo la lactosa y de las frutas

como fructosa y la mayoría de azúcares que se añaden en la alimentación como la maltosa, que es un producto de la digestión del almidón. Algunas de sus funciones en azúcares agregan dulzura a los alimentos, conservan la frescura y la calidad de los productos, actúan como conservantes en mermeladas y jaleas, mejoran el sabor de las carnes procesadas, agregan volumen al helado y agregan cuerpo a las bebidas carbonatadas. Encontramos en los monosacáridos la glucosa, isoglucosa, fructosa y galactosa y los disacáridos la sacarosa, lactosa, maltosa e isomaltosa, (ADAM, 2022).

#### **8.14.1. Glucosa**

Es el más simple de los carbohidratos, monosacárido una de las fuentes de combustibles preferidas en forma de carbohidratos como el pan, frutas, vegetales, consumirla de manera moderada el cuerpo funciona de manera óptima, (Pointer, 2017).

#### **8.14.2. Isoglucosa**

Es un nuevo jarabe de almidón en el que la glucosa se isomeriza a fructosa usando una o más enzimas isomerizantes. Un edulcorante primario derivado del almidón de maíz que se usa ampliamente en alimentos y bebidas no alcohólicas, (Rinagazo, 2019).

#### **8.14.3. Fructosa**

Es un monosacárido encontrado en los vegetales, las frutas y la miel. El jarabe de maíz rico en fructosa *high fructose corn syrup* es una mezcla obtenida por la isomerización de la glucosa en peso seco. En algunas bebidas usan hasta el 55 % de fructosa, (Perez, 2022).

#### **8.14.4. Galactosa**

La galactosa es un monosacárido o azúcar simple que se encuentra en la leche y se convierte en energía al llegar al hígado. Está formada por seis átomos de carbono y esta enlazada con las células del hígado comúnmente se sintetiza en las glándulas mamarias para producir lactosa, (Polanco, 2020).

#### **8.14.5. Sacarosa**

Es un disacárido que se forma a partir de la unión de dos azúcares monosacáridos la glucosa y la fructosa. La sacarosa es importante en el metabolismo de todas las plantas como principal

producto de la fotosíntesis. El floema transporta células vivas que transportan la solución acuosa de azúcares que ayudan el número y tamaño de las raíces de las plántulas y la concentración de azúcar puede provocar que las hojas se disminuyan y el tamaño de los brotes, (Silva, 2009).

#### **8.14.6. Lactosa**

Del latín “lac lactis” traducida como leche. El azúcar que se encuentra naturalmente en la leche y es la unión de dos moléculas la glucosa y la galactosa como fuente de energía natural, (Porto & Merino, 2014).

#### **8.14.7. Maltosa**

La maltosa es un disacárido compuesto por dos moléculas de glucosa, que se encuentra en el almidón y en el glucógeno; se emplea como nutriente y edulcorante, y como medio de cultivo su fórmula es  $C_{12}H_{22}O_{11}$ , (Herraez, 2018).

#### **8.14.8. Isomaltosa**

Producto de la digestión del almidón, es un azúcar que consta de dos glucosas unidas por grupos de carbono hidroxilo. La isomaltosa se parece a granos de cebada germinada obtenida por la hidrólisis del almidón y el glucógeno con una resistencia de más de 160°C manteniendo su color transparente y se usan en medicamentos, jarabes grageas también es utilizado para mejorar el sabor de las pastas dentales, (Vazquez, 2016).

### **8.15. Gelificantes**

#### **8.15.1. Agar**

El agar es un hidrocoloide natural extraído de algas rojas, principalmente por tipos de *Gelidium*, *Gracilaria* y *Pterocladia* es libre de impurezas, lista para la propagación comercial de especies de plantas, así como para la ingeniería genética in vitro. El agar tiene una resistencia de gel muy alta 1.000g/cm<sup>2</sup> lo que permite a concentraciones muy bajas cuando se usan con otros hidrocoloides mostrando una excelente transparencia que ayuda a identificar la contaminación visual por bacterias y mohos que podrían interferir en el desarrollo de la planta. Su almacenamiento lleva a una temperatura mínima 2°C a temperatura máxima de 25°C. Propiedades del agar: Es bajo en kcal, brinda saciedad. La saciedad que brinda favorece el consumir menos kcal, ayuda a regular los niveles de colesterol y glucosa, (FAO a. m., 2012).

### **8.15.2. Grenetina**

Producto incoloro y líquido que se pueden obtener consistencia que van desde una comparable a un jarabe espeso como la goma y se puede encontrar en dos presentaciones: grenetina en láminas en la cual se necesitan hidratarse en agua fría y posteriormente exprimirse con las manos quedando aproximadamente 15 mililitros de agua y la grenetina en polvo la técnica consiste en agregar agua en forma de lluvia, es importante que sea mayor que el peso de la grenetina, (Rossa, 2017).

### **8.15.3. Carragenina**

Se obtiene de algas rojas y está compuesta de azúcares naturales que son capaces de formar coloides viscosos geles, están actúan como gelificante, retenedor de humedad, espesante, agente de suspensión y estabilizante. Carragenina brinda al producto textura y consistencia y facilita el corte y reduce la separación, (Rossa, 2017).

### **8.15.4. Pectina**

Es un derivado del azúcar encontrado en frutas y plantas principalmente para espesar mermeladas, jaleas, conservas y compotas calor + azúcar +ácido. Algunos frutos rojos son ricos en pectinas natural y cuando son cocinados se activa una textura de gel obteniendo la consistencia deseada, (Rossa, 2017).

## **8.16. Vitaminas**

Las vitaminas son un compuesto orgánico que cuando a la planta le hace falta vitaminas, se le proporciona un suplemento de dicha vitamina en los cultivos de tejidos vegetales, ya que es necesario que las plantas sean más fuertes y sanas posibles. Los tipos de vitaminas que se pueden encontrar en los tejidos vegetales son: Vitamina B12, biotina, ácido fólico, niacina, vitamina C (ácido L-ascórbico), inositol, B1 tiamina, vitamina B2 riboflavina y vitamina B6 piridoxina, (Bosschen, 2015).

## **8.17. Preparación de los medios de cultivos.**

### **8.17.1. Medios líquidos**

Promueve el crecimiento bacteriano de las células estresadas y, en algunos casos, no puede ser reemplazado por medios sólidos, como los que soportan exotoxinas, pigmentos y enzimas, (Gram, 2021).

### **8.17.2. Medios sólidos**

Obtención de bacterias aisladas formando colonias en la superficie del medio de cultivo y examinando la morfología de las colonias. Se distinguen por tener una sustancia de soporte, como agar, agar común, agar simple, (Gram, 2021).

### **8.17.3. Medios semisólidos**

Tienen un menor porcentaje de agar y se utiliza para el estudio de la motilidad de las bacterias si químicamente, es un polisacárido de cadena larga, según su tamaño tiene el poder gelificante de la generación Gelidium, (Gram, 2021).

## **8.18. Etapas de cultivo in vitro**

Es un grupo técnico que permite la conservación de células o tejidos en un medio nutritivo y en un ambiente controlado, por ello tenemos las siguientes fases o etapas comunes al proceso de proceso de propagación in vitro, (Vargas & Rosa, 2016).

### **8.18.1. Fase 0: Preparación de la planta madre**

Para obtener un cultivo de en condiciones de asepsia, se deben tener explantes de una planta madre con un nivel nutricional y un grado de desarrollo adecuado. En el proceso de estabilizar el cultivo debe estar en condiciones sanitarias óptimas para permitir un crecimiento vigoroso y libre de enfermedades, (Perea, 2012).

### **8.18.2. Fase 1: Desinfección del material**

Después de seleccionar la planta madre, se obtienen explantes, que pueden ser brotes, trozos de hojas, partes de raíces, semillas. La desinfección de las piezas se realiza para eliminar los contaminantes externos, como hongos y bacterias, que se encuentran de forma natural. Se trabaja bajo cabinas de flujo laminar para obtener explantes a partir de material vegetal. Estos

explantes se colocan en un tubo de cultivo después de haber desinfectado el material con cloro comercial puro o diluido durante 5 a 15 minutos y después de 3 o 4 lavados en agua estéril para comprobar su sanidad y viabilidad., (Castillo A. , 2019).

### **8.18.3. Fase 2: Introducción del material in vitro**

Después de la desinfección de la superficie, dependiendo del material seleccionado, se colocan en un ambiente alimentario estéril. Al cabo de 15 a 20 días, comienza el proceso de regeneración o brotación de nuevo tejido vegetal, iniciándose así el cultivo in vitro., (Castillo A. , 2019).

### **8.18.4. Fase 3: Multiplicación**

En esta etapa de propagación, los explantes que sobreviven a la emergencia o adventicia deben tener varias hojas. Cada hoja tiene un capullo que aparece después de colocar el medio de crecimiento. Los nuevos brotes resultantes deben agregarse a tubos de cultivo u otros recipientes adecuados. Estas operaciones deben realizarse en cámara laminar, aumentando así la distribución de las plantas. El número de plantas obtenidas por micropropagación permite un crecimiento exponencial, dado que se optimizan todos los factores de crecimiento, (Castillo A. , 2019).

### **8.18.5. Fase 4: Enraizamiento**

Para el enraizamiento se utilizan plántulas individuales de unos 2 cm de tamaño, los brotes obtenidos en la etapa de propagación se transfieren a un medio que contiene un regulador de crecimiento o solo hormonas de tipo auxina. En algunas especies no tienen que pasar por esta etapa y salen de sus raíces, donde aparecen nuevos brotes, es por eso que la fase de enraizamiento y multiplicación se transcurre simultáneamente, (Castillo A. , 2019).

### **8.18.6. Fase 5: Aclimatación**

Los explantes enraizados son muy sensibles a los cambios ambientales. Al momento que se extraen los explantes enraizados de frascos están pocos adaptados ya que su enraizamiento fue en ambientes de humedad relativa muy elevada que tienen estomas estructuras responsables de regular la transpiración y pérdida del agua en lo cual son lentos para la desecación del explante. Las plántulas deben ser aclimatadas en condiciones de humedad del invernadero disminuyendo

la humedad y el incremento de los rayos de luz, deben ser colocados bajo plásticos para mantener la humedad relativa elevada, (Leiber, Andrea, & Gabriela, 2020).

### **8.19. Proyecto de la investigación realizado.**

❖ La frambuesa (*Rubus rosifolius* Sm.) se ha convertido en una fruta nacional muy valiosa y cotizada por los beneficios que aporta a la sociedad tanto para la salud como para la economía. Esta especie supo adaptarse a las condiciones de suelo y clima del Ecuador, aunque no es nativa. Se evitó su propagación fuera de la edad y el daño de la planta madre. Por lo tanto, se debe realizar su rejuvenecimiento y micropropagación in vitro, lo que puede brindar mejores plantas y frutos a la sociedad. Para ello, se han propuesto diferentes protocolos en cada etapa. En la fase de neutralización se ensayaron dos tratamientos T1 (presencia de antioxidantes) y T2 (ausencia de antioxidantes); Introducción T1 (6-Bencilaminopurina (BAP), 1 mg/l, antioxidantes), T2 (BAP 1,5 mg/l, sin antioxidantes); multiplicación T1 (BAP 1 mg/l), T2 (BAP 1,5 mg/l) y T3 (BAP 2 mg/l); y erradicación de T1 (BAP 1 mg/l; ácido indolbutírico (IBA) 1 mg/l), T2 (BAP 1 mg/l; IBA 2 mg/l), T3, (BAP 1,5 mg/l; IBA 1 mg /L. L) L), T4 (BAP 1,5 mg/l; IBA 2 mg/l), T5 (BAP 2 mg/l; IBA 1 mg/l), T6 (BAP 2 mg/l; IBA 2 mg/l). Se evaluaron diversas variables y se eligió el tratamiento que dio mejores resultados para cada etapa: detoxificación de T1, introducción de T1, proliferación de T3 y erradicación de T5. Los tratamientos seleccionados permitieron obtener el protocolo final de micropropagación de frambuesa, (Solis, 2019)

❖ Para el establecimiento in vitro se realizaron pruebas con tres tratamientos, la mayor sobrevivencia (5%) se obtuvo con una desinfección superficial de 6g/l Agri-mycin y Bisolex y 5g/l Ferbam durante 60 min, seguida de una exposición a CaClO<sub>2</sub> 3,5% por 15 min en bomba al vacío. Se probaron dos sistemas para la micropropagación, el medio semisólido y el medio líquido en inmersión temporal, utilizando medio de cultivo MandS complementado con BAP, AG y ácido ascórbico, con un pH de 5.5. Las pruebas en medio semisólidos presentaron buenos resultados en brotación y crecimiento en el sistema de inmersión temporal los resultados fueron similares, sin embargo, los explantes se observaron más vigorosos. Los análisis estadísticos no revelaron diferencias significativas entre estos tratamientos, aun así, deben realizarse pruebas adicionales con el fin de optimizar el sistema de inmersión temporal, (Castro, Fiorella, 2010).

❖ Se realizó con el fin de estandarizar el medio de cultivo para la propagación clonal in vitro de *Rubus idaeus* L., Erbe tipo “frambuesa roja”, se desarrollaron pruebas de establecimiento, propagación, enraizamiento in vitro y adaptación. Las plantas de frambuesa nativa se obtuvieron del vivero Los Incas (Lima) y se mantuvieron en condiciones de invernadero en la Universidad Ricardo Palma. Se tomó un pequeño esqueje de 2-3 cm, se esterilizó en condiciones asépticas, y la punta del meristemo y el esqueje se sembraron en medio Murashige y Skoog (MS) en 1/, 1/2, 3/ y full sal. Las plántulas obtenidas se propagaron en el medio de cultivo que contenía 1, 1,5, 3 mg/l de 6-bencilaminopurina (6-BAP) junto con 0,5 y 1 mg/l de ácido giberélico (GA3). Estos se activaron en medio que contenía 0,5, 1, 2 mg/L de ácido indolacético (IAA) y 1 mg/L de AIA con 0,5 mg/L de carbón activado. Las plántulas enraizadas se transfieren a cámaras de adaptación en turba, arena, sustrato de humus (1: 1: 0, 2: 1: 0 y 1: 1: 1 volumen). Los resultados muestran que en el 80% de los minicortes cultivados en medio MS con sales completas con una altura promedio de 1088 cm. El medio de propagación suplementado con 1 mg/L de 6-BAP y 0,5 mg/L de GA3 permitió 5, brotes por poste. Además, 70 plántulas enraizadas en medio semisalino suplementado con 1 mg/L de AIA y 100 plántulas enraizadas en sustrato de turba:arena (1:1 y 2:1 v/v) pudieron sobrevivir. Uso de habitaciones adaptadas, (Cuya, 2016).

❖ En Tumbaco, Pichincha a 2348 msnm, se realizó la evaluación agronómica y fenología de dos clones de mora sin espinas, Clon 1 (148) y Clon 2 (135) para determinar su potencial comercial. Se utilizó un Diseño de Bloques Completos al Azar, con tres tratamientos conformados por Clon 1 (148), Clon 2 (135) y Testigo (Mora de Castilla) con 5 repeticiones. Las variables evaluadas fueron: habito de producción, inicio de floración, inicio de cosecha, duración de la cosecha, número de inflorescencias por rama, número de botones florales por racimo, rendimiento por planta y por hectárea, número de frutos por planta total cosechado, diámetro ecuatorial y polar, peso del fruto, incidencias de *Peronospora* sp, Acidez titulable, pH, y presión de la pulpa. Los principales resultados arrojaron que: el Clon 2 (135) alcanzo los mejores resultados en inicio de floración con 68.11 días, duración de cosecha con 27.86 días, números de inflorescencias por rama con 15.53 días, números de botones florales con 2. 3 con un rendimiento por planta de 5.26 kg y con un peso del fruto de 6.8 g. Con respecto a la incidencia de *Peronospora* sp, el tratamiento que obtuvo mejor resultado fue el Clon 2 (135) y finalmente el análisis financiero detectó que en el cultivo de mora de castilla sin espinas, en el

primer año no alcanzó a ser rentable por los altos costos de establecimiento del huerto, pero en el segundo año alcanzó una rentabilidad del 75 %, (Castillo Y. Y., 2013).

## 9. HIPÓTESIS

**HA=** Al menos un medio de cultivo empleado permite la obtención de plantas in vitro del cultivo de frambuesa (*Rubus idaeus*), mediante micropropagación.

**HO=** Ningún medio de cultivo empleado permite la obtención de plantas in vitro del cultivo de frambuesa (*Rubus idaeus*), mediante micropropagación.

## 10. METODOLOGÍAS

### 10.1. Localización del experimento

El proyecto de investigación se llevó a cabo en el laboratorio de biotecnología “Vitro Plantas”, ubicado en el Cantón Cevallos, en la Provincia de Tungurahua, su ubicación geográfica es con una latitud 1°25’0” Sur, longitud 78°35’22” Oeste con una altitud de 2855msnm. Obteniendo una duración de 5 meses (150 días) de trabajo en el laboratorio.

### 10.2. Condiciones agro meteorológicas

En la tabla 4 se estudió bajo las condiciones agro meteorológicas del cantón Cevallos provincia de Tungurahua.

**Tabla4:** Condiciones agro meteorológicas del cantón Cevallos.

Parámetros	Promedios
Altitud m.s.n.m	2866
Temperatura máxima °C	17
Temperatura mínima °C	13
Temperatura media anual °C	12.96
Precipitación mm/año	250 a 500
Precipitación media mm/año	442.5
Heliofanía hora/luz/año	773
Humedad relativa	75.9

**Fuente:** Estación del Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (INAMHI), en Queracocha, 2015.

En la siguiente tabla 5 se representa bajo las condiciones controladas dentro del laboratorio para un buen desarrollo en micropropagación.

**Tabla 5:** bajo condiciones controladas dentro del laboratorio

<b>Parámetros</b>	<b>Promedios</b>
Temperatura	17°C - 27°C
Humedad relativa	30%-70%
Fotoperiodo	16-8h

**Elaborado por:** Ugsha (2022).

### 10.3. Materiales y equipos

En la siguiente tabla 6 se detallan los materiales y equipos del laboratorio que se utilizó fueron esterilizados antes del respectivo uso en la micropropagación del cultivo de la frambuesa.

**Tabla 6:** Materiales y equipos

<b>Materiales</b>	<b>Unidad</b>	<b>Cant.</b>	<b>Equipos</b>	<b>Unidad</b>	<b>Cant.</b>
Vasos de precipitación	Unidad	4	Autoclave	hora	1
Mechero	Unidad	1	Microondas	hora	1
Probeta	Unidad	2	Cámara de flujo laminar	hora	1
Tubo de ensayo	Unidad	1	Balanza analítica	hora	1
Frascos de vidrio	Unidad	50	Agitador magnético	hora	1
Pinzas	Unidad	1	Ph-metro	hora	1
Caja de bisturí	Unidad	1			
Sales minerales, (M.S)	Kg	1			
Caja de mascarilla	Unidad	1			
Agua destilada	Gl	1			
Mandil	Unidad	1			
Alcohol	Gl	1			
Hipoclorito de sodio	Gl	1			
Servilletas	Unidad	1			
Agar	Kg	1			

Reguladores de crecimiento (BAP, AG)	L	2
Sacarosa	Kg	1
Regulador regenerativo (KN)		1
Pipeta	Unidad	1

Elaborado por: Ugsha (2022).

#### 10.4. Medios de cultivo

El medio de cultivo general utilizado para la propagación in vitro se muestra en la Tabla 7 del Estudio de preparación del medio de cultivo.

**Tabla 7:** Medio de cultivo y reguladores de crecimiento para un litro de solución, establecimiento.

Factores de estudio	Cantidades	Unidades
Murashige y Skoog (MS)	0.652	gr/l
Sacarosa (SC)	5	gr/l
Ácido Giberelico (AG3)	0.25	mg/l
PH	5.7	-
Agar	1.7/250	gr/l

Elaborado por: Ugsha (2022).

**Tabla 8:** Medio de cultivo y reguladores de crecimiento para un litro de solución, multiplicación.

Factores de estudio	Cantidades	Unidades
Murashige y Skoog (MS)	0.652	gr/l
Sacarosa (SC)	5	gr/l
Ácido Giberelico (AG3)	0.25	mg/l
Kinetina (KN)	0.8	L
Bencilaminapurina	0.25	gr/l
Agar	1.7	gr/l
PH	5.7	-

Elaborado por: Ugsha (2022).

### 10.5. Tratamientos

Se empleó un total de tres tratamientos y un tratamiento de testigo de concentraciones como resultado del proyecto de investigación. De la unión de los factores se obtendrá los tratamientos.

Tabla 9

**Tabla 9:** Tratamientos de la investigación

Orden	Tratamientos	Código
1	Murashige y Skoog+ Ácido Giberelico+ Bencilaminapurina	MS+ AG+BAP
2	Murashige y Skoog+ Ácido Giberélico + Kinetin	MS+ AG+KN
3	Murashige y Skoog+ Bencilaminapurina	MS+BAP
4	Murashige y Skoog	MS

Elaborado por: Ugsha (2022).

### 10.6. Diseño experimental

Se realizó un diseño experimental completamente al azar (DCA) con cuatro tratamientos y diez repeticiones. Además, se utilizó la prueba múltiple de Tukey con una probabilidad de 5% utilizando un programa estadístico llamado Infostat.

### 10.7. Esquema del experimento

En la tabla 10 se presenta el esquema del experimento basados en tratamientos y métodos relacionados con las siguientes etapas: unidad experimental, repeticiones y asignación de tratamientos en donde se utilizaron un total de 50 explantes por tratamiento dando un total de 200 plántulas.

**Tabla 10:** Esquema del experimento.

Orden	Tratamientos	Repeticiones	U E.	Total
T1	Murashige y Skoog+ Ácido Giberelico+ Bencilaminapurina	10	5	50
T2	Murashige y Skoog+ Ácido Giberélico + Kinetin	10	5	50
T3	Murashige y Skoog+ Bencilaminapurina	10	5	50
T4	Murashige y Skoog	10	5	50
Total				<b>200</b>

Elaborado por: Ugsha (2022).

UE: Unidades Experimentales

### 10.8. Análisis de varianza.

El análisis de la varianza que se realizó en la investigación se presenta en la siguiente tabla.

**Tabla 11:** Análisis de varianza

Fuente de variación		Grado de libertad
Repeticiones	(r-1)	9
Tratamientos	(t-1)	3
Error experimental	(t-1) (r-1)	27
Total	(t*r-1)	39

Elaborado por: Ugsha (2022).

### 10.9. Variables evaluadas

#### 10.9.1. Porcentaje de contaminación

En el proceso que se realizó para evaluar los explantes contaminados, se tomaron los 40 frascos y se procedió al conteo, debido al tratamiento que se usó en la desinfección con el 70% de hipoclorito de sodio y el 70 % de alcohol y los explantes se examinaron en busca de signos de hongos, bacterias, oxidación o levadura.

$$\% \text{de sobrevivencia} = \frac{\text{Brotos contaminados}}{\text{Total de brotes}} * 100$$

#### 10.9.2. Supervivencia de explantes

En esta variable se tomó en cuenta la contaminación de los micros estacas de los 48 frascos bajo la etapa de multiplicación, donde se evaluó las 2 micro estacas en esta fase

### **10.9.3. Porcentaje de sobrevivencia**

Se contabilizó los explantes que no lograron tener una respuesta de prendimiento en los tratamientos de la fase de multiplicación. Se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de sobrevivencia} = \frac{\text{Brotos contaminados}}{\text{Total de brotes}} * 100$$

### **10.9.4. Longitud de brote (cm)**

Se midió con una regla pequeña y una hoja blanca en el laboratorio, midiendo desde la base hasta la punta de cada brote en centímetros.

### **10.9.5. Número de hoja por explante**

Para resolver esta variable tomamos los explantes del frasco de vidrio y se tomó apuntes de las hojas desarrolladas de cada brote observando que los tratamientos en los cuarenta y cinco días se presenciaban de buena calidad y de buen tamaño.

### **10.9.6. Número de brotes formado por explante**

Se procedió a contabilizar los nuevos brotes que se formaron en el explante durante su permanencia en el medio de cultivo, donde el resultado fue favorecedor porque si se estaban desarrollando, y multiplicando dentro de los frascos muchas de las ocasiones en un explantes se había formados dos brotes.

### **10.9.7. Número de hoja por brote**

En este proceso se procedió a contar las nuevas hojas por cada brote formado en el explante que se encontraban dentro del frasco con los medios de cultivo donde se sumaron tomaron completamente desarrolladas

### **10.9.8. Presencia de callo**

Se procedió a observar en cada explante de los cuatro tratamientos y diez repeticiones con la ayuda de una linterna la presencia de callo no hubo existencia de ello, lo cual significa que no

hay ni heridas ni daños que el callo lo pueda cubrir. La planta madre donde se recolecto las estacas fueron muy jóvenes debido a eso no se encontraron dichas células.

#### **10.9.9. Largo de raíz (cm)**

El largo de la raíz es uno de los rasgos más importantes para ser evaluado, se procedió a medir con una regla en centímetros desde el tallo hasta el extremo de la raíz durante su permanencia en el medio de cultivo, respondiendo al 100% de todos los tratamientos con una raíz pequeña pero bien formada

#### **10.9.10. Número de raíz por explante**

Para resolver la última variable y crecimiento de la planta fue que se observó los números de la raíz por explante y así multiplicándose dentro del frasco, obteniendo de una a dos raíces por explante para luego ser contabilizado.

### **10.10. Manejo de la investigación.**

#### **10.10.1. Selección y preparación del explante de partida**

Se partió de la etapa 0, donde se recolectó el primer explante en la misma área del laboratorio de la vitro plants, se seleccionó cuidadosamente el mejor material vegetal y se tomó una parte de la planta madre que tenía 1 año en excelentes características que asegura una división celular más fuerte. El tamaño del explante es importante, su tamaño promedio es de 2 a 2,5 cm, es ideal para la desinfección y restauración de la planta, cuanto es el riesgo de contaminación y más difícil es restaurar, cuanto más grande es, mayor el riesgo de contaminación y recuperación de plantas.

#### **10.10.2. Obtención del explante**

Se obtuvo de las yemas, fueron cortados a una longitud de 30cm teniendo un aproximado de 6 a 9 yemas útiles realizando un corte transversal y así llevando 48 microestacas al laboratorio.

#### **10.10.3. Lavado y desinfección**

Se realizó un corte más pequeño al material vegetativo de 2 cm a 2.5cm aproximadamente. La micro estaca fue desinfectada con un fungicida de ingrediente activo propamocarb 1 ml por litro del tejido sano antes de ser llevada al laboratorio.

#### **10.10.4. Establecimiento del cultivo aséptico**

Este proceso se lo lleva a una cabina de flujo laminar asépticamente aislada a condiciones controladas. Teniendo 6 grupos cada una de ellas 8 explantes, teniendo 48 micro estacas ya listo para ser desinfectado con cloro, alcohol y agua destilada.

#### **10.10.5. Primera desinfección**

Ya listo el material se procedió a desinfectar en el laboratorio, se realizó una desinfección con alcohol al 70% durante 5 min y cloro comercial al 70% durante 10 minutos con enjuagues sucesivos utilizando agua destilada previamente esterilizada y con la ayuda de una cabina de flujo laminar para garantizar la asepsia. Cabe mencionar que antes y después del uso, desinfectar un 97% el área de trabajo.

#### **10.10.6. Ingreso y desinfección de la cámara de flujo laminar**

Se realizó el último proceso de asepsia en la cámara de flujo laminar teniendo desinfectado toda el área de trabajo con un 97% alcohol concentrado y usando papel desechable, cabe decir que en la cabina de flujos se encontraba tres frascos de agua destilada, estos a su vez fueron auto clavados durante 90 minutos, la importancia de desinfectarse las manos para trasladar las micro estacas con una pinza previamente desinfectada cerca de un mechero que se encontraba encendido y el alcohol cerca que servía para desinfectar la pinza y el bisturí. Así mismo se realizó una desinfección de la cámara de flujo laminar y se procedió a pasar las microestacas en agua destilada, inmediatamente se descendió a introducir las micro estacas hacia los 3 frascos de alcohol y 3 frascos de cloro comercial que permanecerían con un lapso de tiempo entre 5, 10, 10 minutos manteniendo una agitación permanente, al terminar el tiempo la fase de asepsia del material vegetativo el cual esta idóneo para ser introducido in vitro.

El uso de la cabina de flujo laminar encendiendo la luz y el flujo de aire dejando que circule alrededor de 15 minutos antes de comenzar el trabajo desinfectar la superficie de trabajo y los materiales con alcohol al 70 % encender los mecheros rociarse las manos con alcohol y dejarlas secar. Luego manipular los explantes lo menos posible para la siembra debemos enjuagar 2 a 3 veces con agua bidestilada estéril colocándolos desinfectados y enjuagados en una caja de petri estéril, sumergiendo las pinzas y bisturí en alcohol y luego flamearlos en el mechero, con la

ayuda de estos instrumentos, sembrar los explantes en los tubos de ensayo o recipientes que contengan el medio nutritivo estéril, (Ramirez H. , 2018)

#### **10.10.7. Establecimiento in vitro**

En el procedimiento in vitro es necesario realizar un corte en la parte del tallo del material vegetal con la ayuda de una pinza y un bisturí, donde se realizan las incisiones, debido a quemaduras asépticas, por contaminación o falta de crecimiento. Para lo cual se preparó el medio gelificante con sus tratamientos, este material es obtenido libre en patógenos y llevándole a la cámara de crecimiento con los ambientes controlados y empezando la fase de la multiplicación.

#### **10.10.8. Siembra del explante en el medio de cultivo (micro estacas).**

Una vez cortada la base se procedió a sembrar dos explantes en cada frasco de vidrio, manteniendo el protocolo de asepsia en la cabina de flujo laminar para evitar la contaminación en los explantes o en los medios de cultivos.

#### **10.10.9. Fase de incubación a condiciones controladas**

Luego de ser sembrados, se amarraron con una banda apretada para reducir la contaminación, cada uno se rotuló con la fecha de siembra y se ingresó a la sala de crecimiento, cabe señalar que los explantes estuvieron 5 días bajo luz artificial con fotoperíodo en un ambiente controlado. Tras obtener la explosión necesaria, comenzaba la fase de propagación.

##### **10.10.9.1. Número de explantes contaminados (NEC)**

Los explantes contaminados se colocaron en el medio de cultivo, 45 días después de la colocación se contó el mismo número que estaban contaminados en 50 frascos después de ingresar a las cámaras de crecimiento.

##### **10.10.9.2. Etapa de Multiplicación**

En esta etapa se realizó la propagación axilar de frambuesa en los diferentes tratamientos propuestos, se seleccionaron los brotes mejor desarrollados y libres de impurezas. Los explantes se transfirieron a un medio de propagación con diferentes tipos de hormonas de crecimiento, al que se le añadió agar. En esta fase de crecimiento se evaluaron tratamientos con las siguientes

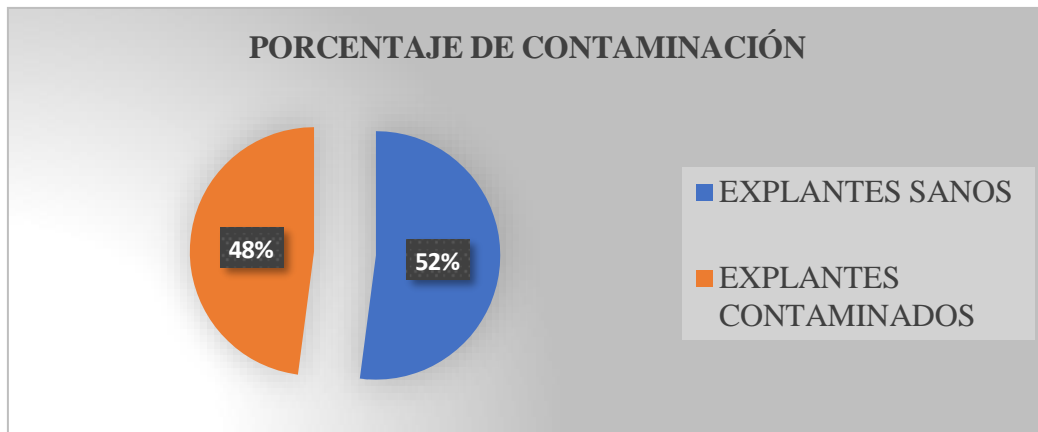
hormonas, como son: MS+AG3 (mg/L) +BAP(1mg/L), T2 MS+KN (mg/L) +AG3(0.25ml), T3 MS + BAP (mg/L), T4 MS (mg) testigo.

## 11. RESULTADO Y DISCUSIÓN.

### 11.1. Porcentaje de contaminación

En la variable del porcentaje de contaminación, se evaluó los 50 frascos durante esta fase se produjo un número de 52% explantes sanos y un número de 48% explantes contaminados, debido a la desinfección con el 70% de hipoclorito de sodio y el 70 % de alcohol en fase de material de partida.

**Figura 1:** Contaminación



Elaborado por: Ugsha (2022).

### 11.2. Supervivencia de explantes

En la primera variable evaluada a los 45 días de establecimiento con todos los tratamientos antes mencionados el 5% de explantes fueron contaminados o necrosados mientras el 95% del resultado fueron excelentes llevando al T1 MS+ AG+BAP con el 9%, y al T3 MS+BAP con el 9%, con menos contaminación. Esto con lleva a un resultado superior a lo obtenido por los autores Jones & Flore (2017) donde manifiesta que el porcentaje de supervivencia fue de 45% en el establecimiento in vitro de la frambuesa. Por lado Hernández (2012) menciona que el sistema de propagación de frutales bajo la biotecnología, se previene los problemas que existen en la propagación por métodos convencionales a corto plazo, y su éxito depende al control y la prevención de la contaminación microbiana y oxidación fenológica dentro del cultivo in vitro. Mientras que Gutiérrez, Torres& Robaina (2015) determina que los frascos de vidrios contaminados por microbiana afectaron el crecimiento vegetal.

**Tabla 12:** Resultado de contaminación por tratamiento a los 45 días.

<b>Medio de cultivo</b>	<b>Explantos contaminados</b>
MS+AG+BAP	0.04 a
MS+AG+KN	0.20 a
MS+BAP	0.04 a
MS	0,16 a

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**Elaborado por:** Ugsha (2022)

### 11.3. Longitud de brote (LB) cm

Con el estudio que se realizó se pudo observar que la concentración tratamiento 1 (MS+AG + BAP) fue el mejor índice de resultado dentro de la variable de longitud de brotes con un promedio 1,16 cm presentado en los 45 días, mientras que el tratamiento de menor promedio en cuanto a la longitud de brote lo presentó la concentración de denominado como T2 (MS+ AG+ KN) expresando un promedio de 0,67 siendo inferior a los demás tratamientos bajo estudios, demostrando una diferencia significativa para esta variable de la investigación

**Tabla 13:** Resultado del número de longitud de brote (LB) cm a los 45 días.

<b>Tratamientos</b>	<b>Largo de Brote cm</b>
T1 MS+AG+BAP	1,16 a
T2 MS+AG+KN	0,67 b
T3 MS+BAP	0,98 a
T4 MS	0,99 a

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**Elaborado por:** Ugsha (2022)

De acuerdo a los resultados obtenidos en donde defieren a lo mencionado por Chávez, (2012) que con la aplicación al medio de cultivo 0,5 mg de ácido 3- indolbutírico (AIB) y 1,0 mg de ácido Giberelico (AG3) en donde obtuvo a las 6 semanas brotes de *pinus taeda* de 1,0 cm con estos brotes lograron un 46 % de enraizamiento. Por otro lado, Andrade, (2018) indica que la adicción de auxinas al medio de cultivo de elongación podría generar un brote con mayor potencial de enraizamiento en la formación de raíces adventicias.

#### 11.4. Número de hoja por explante (NHE)

En la variable del número de hojas por explantes se evidenció que el mejor resultado lo obtuvo con la concentración del Tratamiento 1 (MS+ AG+ BAP) con un promedio de 5,00 siendo uno de los tratamientos con mejor índice de hoja dentro de la investigación, mientras que el tratamiento 2 (MS+AG+KN) y el Tratamiento 3 (MS+BAP) presentaron un promedio inferior a los demás tratamientos con un valor de 3,4 y 4 el número de hoja por explantes las misma que no presentaron diferencias estadísticas entre los tratamientos.

**Tabla 14:** Resultado del número de hoja por explante (NHE) a los 45 días.

Tratamiento	Número de hojas por explante
T1 MS+AG+BAP	5,0 a
T2 MS+AG+KN	3,4 a
T3 MS+BAP	4,0 a
T4 MS	4,1 a

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p>0,05$ )

Elaborado por: Ugsha (2022)

Este resultado coincide con lo expresado por Solis, (2019) donde determina que en la multiplicación de frambuesa con el T1 (BAP 1 mg/ L) mostró mejores resultados debido a la baja cantidad de meristemas muertos oxidados y mayor capacidad, porque contiene antioxidantes (ácido cítrico y ácido ascórbico), BAP con una concentración de 1 ml/l y un pH de 5.8, conservando las hojas y las hojas de los brotes. Mientras que Molina, (2012) menciona que a los 67 días estudio con 5 tratamientos y siendo el mejor tratamiento el Murashige y skoog y la Bencilaminapurina por su cantidad de producir y conservar las hojas verdes.

#### 11.5. Número de brotes formado por explante (NBF)

El resultado expresado con el tratamiento 3 (MS+BAP) fue el mejor resultado en la investigación presentando un promedio de 2,50 para la variable de los números de brotes formado por el explante, sin embargo, los tratamientos que obtuvieron un bajo promedio en brotes fueron: el Tratamientos 2 (MS+AG+KN) y Tratamiento 4 (MS) presentando un promedio de 1,20 y 1,10cm, evidenciando una diferencia estadística entre los tratamientos del estudio.

**Tabla 15:** Resultado de los números de brotes formados por explante NBFE a los 45 días.

<b>Tratamiento</b>	<b>Número de Brotes Formado por Explantes</b>
T1 MS+AG+BAP	2,10 ab
T2 MS+AG+KN	1,20 b
T3 MS+BAP	2,50 a
T4 MS	1,10 b

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p>0,05$ )

**Elaborado por:** Ugsha (2022)

De acuerdo con Flores, D.(2012) donde determina que el medio de tratamiento (M&S 2 mg/L de 6-bencilaminopurina (BAP), 1 mg/L de ácido Giberélico), evita la oxidación de los explantes y estimula la micropropagación del material proporcionando los mejores resultados para la multiplicación de brotes a partir de meristemas apicales. Por otro lado, Ramirez, D. (2017). Indica que el medio de MS es aplicado en la mayoría de las especies propagadas mediante in vitro obteniendo promedio alto de 5 a 6 cm.

### 11.6. Número de hoja por brote (NHB)

La variable de número de hoja por brotes, con la concentración de MS+AG+BAP expreso un mejor índice en cuanto al número de hoja por brotes presentando un promedio de 2,50 como resultado, sin embargo, en la investigación también se expresaron resultados inferiores a lo requerido en el laboratorio como fueron: los tratamientos 2 y 4 obteniendo un promedio menor de 0,80 para estas variables, habiendo una diferencia estadística significativa entre los tratamientos.

**Tabla 16:** Resultado de los números de hoja por brote NHB a los 45 días.

<b>Tratamiento</b>	<b>Número de Hojas por Brotes</b>
T1 MS+AG+BAP	2,50 a
T2 MS+AG+KN	0,80 b
T3 MS+BAP	2,30 a
T4 MS	0,80 b

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p>0,05$ )

**Elaborado por:** Ugsha (2022)

De acuerdo al resultado presentado en la tabla 16 concuerda con Maldonado, (2014) en donde manifiesta que la BAP es considerado como el mejor medio de multiplicación, debido que la

citoquinina actúa en la intervención de la división celular, y es la más utilizada para obtener mayor número de brotes en la propagación in vitro.

### 11.7. Presencia de callo (PC)

En la investigación que se realizó no se evidenció la presencia de callo durante los 45 días, debido que todo los explantes fueron extraídos de una planta muy joven.

No obstante, en la investigación de Rodríguez (2014) menciona que la inducción de callos con el medio de cultivo de Murashige y Skoog sin hormonas es una alta relación de auxinas y citoquininas o también solo auxinas que favorece a la presencia de callo organogénico. Por otro lado, Cayo & Peralta (2021) en el medio de enraizamiento Woody Plant Medium más la combinación de Ácido Indol Butírico se observó que a los 30 días la mayoría de brotes de raíces con una formación moderada de callos.

### 11.8. Largo de raíz (LR) cm

En la variable largo de la raíz como se muestra en la Tabla 16, el mejor índice de resultado lo presentó el tratamiento 1 (MS+AG+BAP) en el que se obtuvo 0,52 cm de largo. Mientras que el tratamiento con menor respuesta en el largo de la raíz fue el tratamiento 2 (MS+AG+KN) donde se combina ácido giberélico y kinetina, la misma que existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos.

**Tabla 17:** Resultado del largo de la raíz LR a los 45 días

Tratamiento	Largo de Raíz cm
T1 MS+AG+BAP	0,52 a
T2 MS+AG+KN	0,32 b
T3 MS+BAP	0,43 ab
T4 MS	0,45 ab

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**Elaborado por:** Ugsha (2022)

Los datos obtenidos defieren a lo mencionado por Solís, (2019) que el enraizamiento T5 (BAP 2 mg/L; AIB 1 mg/L), permitió el crecimiento de raíces así obteniendo un mejor índice de promedio. Por otro lado, Napoles & Cid, (2017) determina que el enraizamiento mediante dos métodos de cultivos líquido estático (MCLE) y Biorreactor de Inmersión temporal (BIT) como

explantes iniciales se emplearon brotes individuales o grupos de brotes unidos entre si formando una macolla en la raíz de su largo ya en la cual posteriormente se aclimatizaron.

### 11.9. Número de raíz por explante (NRE)

Para el número de raíces por explante se observó el mejor promedio en el tratamiento 3 con la concentración MS+BAP permitiendo el mejor desarrollo de raíces y así obteniendo el mejor promedio de 1,60 en esta variable evaluada, seguido por el tratamiento 2 con la concentración MS+AG+KN obteniendo un promedio de 1,50; sin embargo el tratamiento que menor promedio presento fue la concentración de MS+AG+BAP con un 1,00 siendo un resultado inferior a los demás tratamientos, durante el análisis estadísticas los tratamientos no presentaron diferencias significativas entre ellos.

**Tabla 18:** Resultado del número de raíz por explantes NRE a los 45 días

<b>Tratamiento</b>	<b>Largo de Raíz por Explantes cm</b>
T1 MS+AG+BAP	1,0 a
T2 MS+AG+KN	1,5 a
T3 MS+BAP	1,6 a
T4 MS	1,2 a

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p>0,05$ )

**Elaborado por:** Ugsha (2022)

De acuerdo a los datos obtenidos concuerdo con González & Lema, (2021) menciona que el enraizamiento se vio en el tratamiento de la combinación de (MS+Av+BAP) donde presentó una mayor cantidad de raíces por brotes con un 75% de enraizamiento, estos debido a la utilización del Aloe vera + Bencilaminapurina que intervienen el crecimiento del sistema radicular en la micropropagación.

### 11.10. ANÁLISIS DE COSTO

El análisis de costo de cada tratamiento después de los cálculos de gastos por tratamiento se logró demostrar el costo de la planta obtenida en cada tratamiento durante la micropropagación, en el tratamiento 1(MS+AG+BAP) con 59.15 USD y el tratamiento 2 (MS+AG+KN) con 59.15 USD el más alto en costos totales por la utilidad de tres tratamientos, observando una diferencia de costos para el T3 (MS+BAP) con 53.15 USD y el T4 (MS) con 49.15USD significativamente.

**Tabla 19:** Análisis de costos

<b>Costos</b>	<b>MS+ AG+BAP</b>	<b>MS+ AG+KN</b>	<b>MS+BAP</b>	<b>MS</b>
Micro estacas	0,15	0,15	0,15	0,15
Insumos de laboratorio	7	7	7	7
Alquiler de equipos y materiales	37	37	37	37
Medios de cultivo				
Bencilaminopurina	4		4	
Kinetina		4		
Murashige &Skoog	5	5	5	5
Ácido Giberélico	6	6		
<b>Total costos</b>	<b>59.15</b>	<b>59.15</b>	<b>53.15</b>	<b>49.15</b>

Elaborado por: Ugsha (2022)

## 12. IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES Y AMBIENTALES).

- **Técnicos**

La investigación realizada a la propagación del *Rubus idaeus* debido a que la tecnología avanza con el tiempo y en los últimos años se da el interés de producir alimentos con la biotecnología vegetal con las frutas como lo es con las frambuesas, con ambientes controlados, resistencia a enfermedades o patógenos como pulgones o nematodos, la conservación de los tejidos de una planta sana o madre, la posibilidad de establecer mejoramientos genéticos, más rápidos que los cultivos tradicionales, por técnicas de biotecnologías e ingeniería genética.

- **Social**

El impacto que se ha generado en este proyecto es el comportamiento alimentario que dispone el consumidor final, cada vez más han ido reemplazando la agricultura tradicional debido a la demanda de daños o plagas y optar por comprar plantas hechas in vitro en fase de haber acabado la aclimatación.

- **Ambiental**

El principal resultado de un cultivo de frambuesas es el impacto ambiental que genera antes durante y en la cosecha. El *rubus idaeus* no soporta fuertes vientos son fáciles en quebrarse o que el fruto se caiga o trayendo el virus de los pulgones.

### 13. PRESUPUESTO

El presupuesto establecido para obtención de plantas del *Rubus idaeus* mediante micropropagación se presenta en la siguiente tabla 20

**Tabla 20:** presupuesto de costos

<b>Recursos</b>	<b>Unidad</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Valor unitario (USD)</b>	<b>Valor total (USD)</b>
<b>Mano de obra</b>				
Recolección del material vegetativo	Jornal	10	0,20	2
Preparación del material vegetativo	Jornal	1	12	12
Establecimiento del material aséptico	Jornal	1	10	20
Instalación de los frascos	Jornal	2	12	24
Control de condiciones ambientales	Jornal	2	2	4
<b>Subtotal</b>				<b>\$62</b>
<b>Insumos</b>				
Hormonas BAP+ AG +KN	L	3	80	240
Hipoclorito de sodio	L	1	10	10
Agar	Kg	1	30	30
Alcohol	Gl	1	22	22
Agua destilada	L	1	10	10
Sales minerales	Kg	2	20	40
propamocarb	L	1	18	18
<b>Subtotal</b>				<b>\$370</b>
<b>Total, costos directos</b>				<b>\$432</b>
<b>Costos indirectos</b>				
<b>Materiales</b>				
Vasos de precipitación	Unidad	10	1,50	11,50
Caja de bisturí	Unidad	1	10	10
Paquete de servilletas	Unidad	1	2,25	2,25
Paquete de mascarillas	Unidad	1	5,50	5,50

Tubos de ensayo	Unidad	2	1	2
Mechero	Unidad	1	15	15
Probeta	Unidad	2	5	10
Frascos de vidrio	Unidad	55	0,50	27,50
Pinza	Unidad	1	2	2
Mandil	Unidad	1	8,50	8,50
Transporte	Unidad	10	15	150
Viáticos	Unidad	5	3	15
<b>Equipos</b>				
Cámara de flujo laminar	Hora	5	10	50
Autoclave	Hora	1	15	15
Balanza analítica	Hora	1	8	8
Plancha de calentamiento	Hora	1	8	8
Agitador magnético	Hora	1	6	6
pH- metro	Unidad	1	15	15
Microondas	Hora	1	15	15
<b>Subtotal de costos indirectos</b>				<b>\$376,25</b>
<b>Total, de costos directos</b>				<b>\$432</b>
<b>TOTAL, DE COSTOS</b>				<b>\$808,25</b>

Elaborado por: Ugsha (2022)

## 14. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 14.2. Conclusiones

Una vez determinado los resultados se describen las siguientes conclusiones:

- ✓ Al dar por concluido el estudio podemos demostrar que las condiciones idóneo para la desinfección de los explantes y materiales esta adecuadamente optima con el consecución de la etapa de desinfección lo cual se realizó dos lavado y tres enjuagues (lavado se hizo con el 70% de hipoclorito de sodio y el 70% alcohol durante 10 minutos y se realizó enjuagues con un intervalo de tiempo de 5,10y 15 minutos en agua destilada, donde se obtuvo un resultado del 5% de explantes contaminado.

- ✓ Una vez finalizado la investigación se comprobó el mejor medio para la micropropagación es el tratamiento 1 con la concentración de Murashige y Skoog +Acido Giberelico +Bencilaminapurina, presentado los mejores resultados en las variables evaluados dentro de la investigación, así obteniendo mayores promedios en cuanto a brotes, hojas, raíces.
- ✓ Debido a estos resultados hemos acertado en cuanto la hipótesis alternativa que determina que el medio de cultivo empleado permite la obtención de plantas in vitro del cultivo de frambuesa (*Rubus idaeus*), mediante micropropagación.
- ✓ En los tratamientos realizados el tratamiento 1 con la concentración de Murashige y Skoog +Acido Giberélico +Bencilaminapurina y el tratamiento 2 con la concentración de Murashige y Skoog +Acido Giberélico + Kinetina fue de mayor beneficio costo.

### **14.3. Recomendaciones**

- ✓ Para obtener los resultados positivos en cuanto al protocolo de desinfección se recomienda realiza otro protocolo de desinfección con hipoclorito de sodio y alcohol para que de esa forma tengamos plántulas o explantes libre de cualquier patógenos y cero porcentajes de contaminación.
- ✓ Se recomienda concorde al resultado obtenido la utilización del tratamiento Murashige y Skoog +Ácido Giberélico +Bencilaminapurina, debido a que presenta un mejor crecimiento y desarrollo en cuanto a la longitud de brotes, número de hojas y brotes.
- ✓ Y de igual manera, se recomienda dar el seguimiento respectivo al desarrollo de la planta obtenida bajo laboratorio verificando su adaptabilidad y comportamiento en campo abierto (ex vitro).

## 15. BIBLIOGRAFÍA

- ADAM, H. (2022). Enciclopedia Medica. Obtenido de <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/002444.htm>
- Agro, C. (2019). Plagas y enfermedades del cultivo de la frambuesa. Obtenido de [https://celuzag.mx/2019/07/12/plagas-y-enfermedades-del-cultivo-de-la-frambuesa/#:~:text=Entre%20las%20m%C3%A1s%20comunes%20est%C3%A1n,%2C%20o%C3%ADdio%20\(Sphaeroteca%20macularis\).](https://celuzag.mx/2019/07/12/plagas-y-enfermedades-del-cultivo-de-la-frambuesa/#:~:text=Entre%20las%20m%C3%A1s%20comunes%20est%C3%A1n,%2C%20o%C3%ADdio%20(Sphaeroteca%20macularis).)
- Aguas, N. (2008). Estudios de prefactibilidad para la produccion y comercializacion de frambuesa. Obtenido de <https://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/1127/1/89530.pdf>
- Andrade, M. (2018). Evaluacion de tres sistemas de cultivo in vitro para la multiplicacion de microcormos de gladiolo. Obtenido de [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0187-73802018000500551#t1](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802018000500551#t1)
- Bonomeli, D. C. (diciembre de 2015). Manual Digital del cultivo de Frambuesas y Frutillas en Chile. Obtenido de INDAP Ministerio de Agricultura: <https://es.scribd.com/document/443659873/manual-de-cultivo-de-frambuesa-en-chile-indap-puc-2015>
- Bosschen. (2015). Vitaminas. Obtenido de Lab associates.
- Castillo, A. (2019). cultivo in vitro una biotecnologia que nos acompaña hace mucho tiempo. Obtenido de <http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/410/1/111219220807102417.pdf>
- Castillo, Y. Y. (2013). Evaluación agronòmica y Fenología de dos clones de mora sin espinas (rubus glaucus Benth) para determinar su potencial comercial. Tumbaco, Ecuador. Tesis de grado preevia a la obtencion de titulo de ingeniera agrónoma , Quito- Ecuador. Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/1005/1/T-UCE-0004-7.pdf>
- Castro, Fiorella. (2010). Establecimiento in vitro y micropropagacion de frambuesa (Rubus idaeus)utilizando medio semisolido y medio liquido en RITA. Informe de trabajo final de graduacion , Instituto tecnologico de Costa Rica Ingenieria en Biotegnologia . Obtenido de <https://repositoriotec.tec.ac.cr/bitstream/handle/2238/444/Trabajo%20Final%20de%20Graduacion.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Cayo, N., & peralta, E. (2021). Propagacion in vitro del cultivo de arandano (*Vaccinium corymbosum* L). proyecto de investigacion tesis. Obtenido de <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/7298/1/UTC-PIM-000309.pdf>
- Chavez, M. (2012). Aspectos basicos de la propagacion in vitro del genero pinus por organogenesis. Obtenido de [https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/rt/printerFriendly/165/528#:~:text=Sin%20embargo%2C%20Coke%20\(1996\),enraizar%20en%20condiciones%20in%20vitro.](https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/rt/printerFriendly/165/528#:~:text=Sin%20embargo%2C%20Coke%20(1996),enraizar%20en%20condiciones%20in%20vitro.)
- Cuya, J. J. (2016). Estandarizacion de un medio de cultivo para la propagacion clonal in vitro de *Rubus idaeus*. Heritage "frambuesa roja" de importancia comercial. Tesis para optar el Titulo Profesional de Licenciada en Biologia , Universidad Ricardo Palma Facultad de Ciencias Biologicas , Lima, Peru. Obtenido de [https://repositorio.urp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14138/1009/Alccaco\\_jj.pdf?sequence=1](https://repositorio.urp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14138/1009/Alccaco_jj.pdf?sequence=1)
- Decelis, V. A. (2013). Ecologica y Propagacion in vitro. tesis nivel maestria , Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo, Michoacana. Obtenido de [http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/xmlui/bitstream/handle/DGB\\_UMICH/1699/FB-M-2013-1239.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/xmlui/bitstream/handle/DGB_UMICH/1699/FB-M-2013-1239.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Dover, B. (2017). Kokanee cv. características de la fruta y planta. Obtenido de <https://www.emcocal.com/frambuesa-kokanee/?lang=es>
- FAO. (2014). requerimientos edafoclimaticos -suelos. Obtenido de <https://www.intagri.com/articulos/frutillas/el-cultivo-de-la-frambuesa>
- FAO. (2016). El cultivo de la Frambuesa. InfoAgro. Obtenido de Toda la agricultura .
- FAO, a. m. (2012). AGAR AGAR. Quimica. es. Obtenido de <https://www.quimica.es/enciclopedia/Agar-Agar.html>
- FAO, b. A. (2016). Tipos y Seleccion. Obtenido de <http://cv.udl.cat/cursos/76304/t5/t5.htm>
- Flores, C. (2021). Metodos y características de reproduccion. My flowers. Obtenido de <https://myflower.desigusxpro.com/es/yagody/malina/kak-razmnozhit-malinu.html>
- Flores, D. (2012). Establecimiento in vitro y pruebas preliminares de micropropagacion en medio semisolido y liquido de frambuesa (*rubus idaeus* L). Obtenido de <file:///C:/Users/HP/Downloads/Dialnet-EstablecimientoInVitroYPruebasPreliminaresDeMicrop-4835840.pdf>
- fruticola, P. (28 de Octubre de 2020). Frambuesa guia basica para el manejo del cultivo . Agroempresario .

- González, H., & Lema, J. (2021). MICROPROPAGACIÓN DEL CULTIVO DE TOMATE (*Solanum lycopersicum* L) CON DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVOS EN EL CANTÓN CEVALLOS PROVINCIA TUNGURAHUA. La Maná: UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI.
- Gram, H. (24 de Noviembre de 2021). Wikilibros. Obtenido de Cultivos, Medios de Microbiología : [https://es.wikibooks.org/wiki/Microbiolog%C3%ADa/Medios\\_de\\_cultivo#:~:text=Medios%20S%C3%B3lidos%3A%20se%20utilizan%20para,que%20puede%20ser%20agar%20agar](https://es.wikibooks.org/wiki/Microbiolog%C3%ADa/Medios_de_cultivo#:~:text=Medios%20S%C3%B3lidos%3A%20se%20utilizan%20para,que%20puede%20ser%20agar%20agar).
- Guatapi, I., & Calderon, J. (Dirección). (2020). Que es la biotecnología [Película]. Obtenido de <https://www.youtube.com/watch?v=Pkpa925Z768>
- Gutierrez, Y., Torres, Y., & Robaina, A. (2015). Incidencia de contaminates microbianos en la propagacion in vitro de *Xathosoma* spp. clon y *Colocasia* esculenta. Obtenido de <file:///C:/Users/HP/Downloads/459-1812-1-PB.pdf>
- Health, A. (2019). Cloro. Química. Obtenido de <https://www.quimica.es/enciclopedia/Cloro.html>
- Hernandez, J. C., & Herrera, J. A. (2013). 6 Bap Regulador fisiologico WP(Polvo Mojable). Obtenido de <https://agroactivocol.com/wp-content/uploads/2020/09/01.-Ficha-Tecnica-M.P.-6-BAP-1.pdf>
- Hernandez, Y. (2012). Efectos de la contaminacion microbiana y oxidacion fenologica en el establecimiento in vitro de frutales perennes. SciELO. Obtenido de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0258-59362010000400015#:~:text=Los%20contaminantes%20m%C3%A1s%20frecuentes%20en,microartr%C3%B3podos%20\(%C3%A1caros%20y%20trips\)](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362010000400015#:~:text=Los%20contaminantes%20m%C3%A1s%20frecuentes%20en,microartr%C3%B3podos%20(%C3%A1caros%20y%20trips)).
- Herraez, A. (2018). Maltosa. Diccionario. INIA. (2020). produccion de frambuesa. Obtenido de <chrome-extension://efaidnbnmnibpcjpcglclefindmkaj/https://biblioteca.inia.cl/bitstream/handle/20.500.14001/32731/NR30888.pdf?sequence=1&isAllowed=y#:~:text=El%20consumidor%20de%20%C3%A9ste%20es,alta%20aceptaci%C3%B3n%20a%20nivel%20mundial>.
- INIAP. (2018). La cadena de valor de la frambuesa en la region andina del Ecuador. Obtenido de <https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/4700/1/iniapscbt171.pdf>
- IUPAC. (23 de enero de 2020). Acido Giberelico. Obtenido de Wikipedia: [https://es.wikipedia.org/wiki/%C3%81cido\\_giber%C3%A9lico](https://es.wikipedia.org/wiki/%C3%81cido_giber%C3%A9lico)

- Jones, F., & Flore, D. (2007). Establecimiento in vitro y pruebas preliminares de micropropagación en medio semisólido y líquido de frambuesa (*Rubus idaeus* L.). *Tecnología en Marcha*, 20(3).
- Lastra, J. M. (2019). Agro biotecnología. IPNA. Obtenido de <https://www.ipna.csic.es/grupo-de-investigacion/agrobiotecnologia>
- Leiber, I., Andrea, L., & Gabriela, L. (2020). Micropropagación. Manabi: Slideshare. Obtenido de <https://es.slideshare.net/veronicataipe904/micropropagacin-236422891>
- Lopez, J. L. (2019). Efecto de la fitohormona y microorganismos eficaces en el prendimiento de esquejes de la frambuesa a nivel invernadero . PERU: UNIVERSIDAD NACIONAL SANTIAGO ANTUNEZ DE MAYOLO.
- Maldonado, C. (2014). EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE EXPLANTES DE MORA SIN ESPINA "*Rubus glaucus* Benth" EN LA FASE DE MULTIPLICACIÓN VEGETATIVA EN UN SISTEMA DE INMERSIÓN TEMPORAL. Quito: ( Ingeniería Tesis Escuela Superior del Ejercito).
- Mantilla, M. (2016). Importaciones mundiales de la frambuesa fresca. Quito. Obtenido de <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgclefindmkaj/https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/5202/1/UPS-QT03827.pdf>
- Molina, J. (2012). Evaluacion de cinco medio de cultivos (Phytamax, Murashige skoog, Knudson, Lidemann y Casero)y tres dosis de auxina y citoquinina. tesis , Cuenca. Obtenido de <https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/387/1/TESIS.pdf>
- Napoles, L., & Cid, M. (2017). Caracterizacion histologica del enraizamiento in vitro de brotes de caña de azucar en medio de cultivo liquido. Obtenido de <file:///C:/Users/HP/Downloads/548-2915-1-PB.pdf>
- Nastic, P. (2021). Frambuesas y moras. Obtenido de <malinakupina.com/es/morfología-de-la-frambuesa.html>
- Nutrición, F. (2022). Calorias en Frambuesas e Informacion Nutricional. Chile. Obtenido de <https://www.fatsecret.cl/calor%C3%ADas-nutrici%C3%B3n/gen%C3%A9rico/frambuesas>
- Ortega, R. (2014). Cultivo MS. Facultad de recursos naturales, Escuela de Agronomía. Scielo. Obtenido de <https://scielo.conicyt.cl/pdf/bosque/v35n1/art12.pdf>
- Overbeek, V., Conklin, & Blakeslee. (2016). Kinetina. Wikipedia. Obtenido de <https://en.wikipedia.org/wiki/Kinetin>

- Pajuña, C. (15 de abril de 2016). Frambuesas ecuatorianas listas para el mercado estadounidense . El Productor . Obtenido de <https://elproductor.com/2016/04/frambuesas-ecuatorianas-listas-para-el-mercado-estadounidense/#:~:text=Actualmente%2C%20la%20producci%C3%B3n%20ecuatoriana%20de,para%20poder%20cultivar%20cantidades%20significativas.>
- Perea, M. (2012). Cultivo de tejidos vegetales In vitro. Tesis para obtener el título de ingeniera agrónoma . Obtenido de [http://ciencias.bogota.unal.edu.co/fileadmin/Facultad\\_de\\_Ciencias/Publicaciones/Imagenes/Portadas\\_Libros/Biologia/Cultivo\\_de\\_Tejidos\\_Vegetales\\_In\\_Vitro/Cultivo\\_de\\_Tejidos\\_Vegetales\\_In\\_Vitro.pdf?fbclid=IwAR2xLhdtU-7yKztpAvuWQjdZYh-ltzpcYT6PnzpAErkw\\_\\_Zozfqc](http://ciencias.bogota.unal.edu.co/fileadmin/Facultad_de_Ciencias/Publicaciones/Imagenes/Portadas_Libros/Biologia/Cultivo_de_Tejidos_Vegetales_In_Vitro/Cultivo_de_Tejidos_Vegetales_In_Vitro.pdf?fbclid=IwAR2xLhdtU-7yKztpAvuWQjdZYh-ltzpcYT6PnzpAErkw__Zozfqc)
- Perez, E. (8 de julio de 2022). Fructosa. Obtenido de Bioquímica de los Alimentos: <https://es.wikipedia.org/wiki/Fructosa>
- Plantigen. (2017). Woody Plant Medium. Product Information. Obtenido de <https://himedialabs.com/TD/PT105.pdf>
- Pointer, K. (2017). Glucosa. Healthline. Obtenido de <https://www.healthline.com/health/es/glucosa>
- Polanco, L. (2020). Galactosa. Diccionario.
- Porto, J. P., & Merino, M. (2014). Lactosa. definicion. Obtenido de <https://definicion.de/lactosa/>
- Predrag. (2021). clima,clima frambuesa. Manual para la producción de frambuesas. Obtenido de <https://www.malinakupina.com/es/clima-y-clima-frambuesa.html>
- Pronac. (2018). La biotecnología vegetal y aplicaciones de la biotecnología agraria . InfoAgro. Obtenido de <https://mexico.infoagro.com/la-biotecnologia-vegetal-y-aplicaciones-de-la-biotecnologia-agraria/>
- Ramirez, D. (2017). Propagación in vitro de explantes de teca obtenidos a partir de semillas. Fisiología Vegetal. Obtenido de <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/250/html>
- Ramirez, H. (2018). Trabajo en condiciones de asepsia. aula virtual. Obtenido de [https://aulavirtual.agro.unlp.edu.ar/pluginfile.php/41271/mod\\_resource/content/1/2\\_TP\\_Elecci\\_n\\_del\\_explanto\\_y\\_desinfecci\\_n.pdf](https://aulavirtual.agro.unlp.edu.ar/pluginfile.php/41271/mod_resource/content/1/2_TP_Elecci_n_del_explanto_y_desinfecci_n.pdf)
- Rinagazo, R. (22 de Octubre de 2019). Isoglucosa. Obtenido de Wikipedia: <https://es.wikipedia.org/wiki/Isoglucosa>
- Rossa, C. (2017). Agentes Gelificantes.

- Rubio, J. (2018). El cultivo del frambueso. Obtenido de chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/http://www.serida.org/pdfs/6085.pdf
- Rubio, J. C., & Gonzales, G. (2018). Rervicio Regional de Investigacion y Desarrollo Agroalimentario(SERIDA). Obtenido de <https://docplayer.es/24897326-El-cultivo-del-frambueso-juan-carlos-garcia-rubio-guillermo-garcia-gonzalez-de-lena-marta-ciordia-ara.html>
- Rubio, M. M. (2020). Generalidades del cultivo in vitro de tejidos vegetales. Cultivos de tejidos vegetales y su aplicacion en productos naturales. Obtenido de <https://www.omniascience.com/books/index.php/monographs/catalog/download/97/410/824-1?inline=1>
- Silva, R. P. (2009). niveles de sacarosa en enraizamiento in vitro. Caracas: Scielo. Obtenido de [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0378-18442009001200012#:~:text=La%20concentraci%C3%B3n%20de%20sacarosa%20y%20el%20tipo%20de%20contenedor%20utilizados,de%20sacarosa%20\(Tabla%20I\).](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442009001200012#:~:text=La%20concentraci%C3%B3n%20de%20sacarosa%20y%20el%20tipo%20de%20contenedor%20utilizados,de%20sacarosa%20(Tabla%20I).)
- Solis, J. (2019). Estandarizacion del protocolo de micropropagacion in vitro de frambuesa (*Rubus rosifolius* Sm)a partir de meristemos axilares. Proyecto de trabajo de titulacion, modalidad proyecto investigativo, Ambato. Obtenido de <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/30460/1/BQ%20201.pdf>
- T, H., Hartmann, E.Kester, D., & Davies, F. (2016). Hartmann and kester's Plant Propagation: Principles and Practices. Obtenido de <http://cv.udl.cat/cursos/76304/t2/t2.htm>
- Vargas, D. N., & Rosa, C. H. (2016). Tecnicas de cultivos celulares e ingenieria de tejidos. Tesis doctoral. Obtenido de [http://www.cua.uam.mx/pdfs/conoce/libroselec/15Tecnicas\\_de\\_Cultivos\\_Celulares\\_e\\_Ingenieria\\_de\\_Tejidos.pdf](http://www.cua.uam.mx/pdfs/conoce/libroselec/15Tecnicas_de_Cultivos_Celulares_e_Ingenieria_de_Tejidos.pdf)
- Vazquez, X. (17 de Octubre de 2016). Isomaltosa. Obtenido de EcuRed: <https://www.ecured.cu/Isomaltosa>

## 16. ANEXOS

### Anexo 1. Curriculum del tutor

#### CURRICULUM VITAE

**Apellidos:** Espinosa Cunuhay  
**Nombres:** Kleber Augusto  
**Cédula de Identidad:** 050261274-0  
**Teléfonos:** 0995463215-032250251  
**Correo electrónico:** [kleber.espinosa@utc.edu.ec](mailto:kleber.espinosa@utc.edu.ec)  
[/espinosakleber23@yahoo.es](mailto:/espinosakleber23@yahoo.es)



- Universidad Técnica de Cotopaxi, Maestría en Gestión de la Producción
- Coordinador de la Carrera de Ingeniería Agronómica, Universidad Técnica de Cotopaxi – Extensión La Maná
- Docente Investigador- responsable del Comité de Editorial, Universidad Técnica de Cotopaxi – Extensión La Maná
- Responsable del proyecto de Creación de la Unidad Educativa, Unidad Educativa Comunitaria Intercultural Bilingüe Cesar Sandoval Viteri
- Responsable del Proyecto de Germoplasma de Semillas de Papas Nativas del Sector Maca Ugshaloma con el Plan Internacional y el INIAP

#### TEXTOS ESCRITOS

Evaluación agronómica de hortalizas de hoja, Col china y nabo ISBN: 978-3-8417-6367-9  
 Editorial Académica Española Disponible en:  
<https://www.eapublishing.com/catalog/details/store/es/book/978-3-8417-evaluaci%C3%B3n-agron%C3%B3mica-de-hortalizas-de-hoja?search=hortalizas>.

#### ARTÍCULOS CIENTÍFICOS

- **Efecto de diferentes abonos orgánicos en la producción de tomate (*Solanum lycopersicum*, L)**, publicado en la revista Biotecnia Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud, 11 de diciembre 2016 disponible en: <http://biotecnia.unison.mx>
  - **Evaluación agronómica del babaco (carica pentagona), con dos fertilizantes químicos en diferentes dosis en el Cantón Pangua**, publicado en la revista UTC ciencia latindex, agosto de 2016 ISSN 1390-6909. Disponible en <http://www.utc.edu.ec/LinkClick.aspx?fileticket=o0SU5nuTvrs%3d&portalid=043>
- Respuesta de variedades de papa (*Solanum Tuberosum*, L) a la aplicación de abonos orgánicos y fertilización química**, publicado en la revista Ciencia y Tecnología de la UTEQ latindex, junio de 2016 con ISSN 1390-4051 Impreso.

## Anexo 2: Curriculum del estudiante investigador

### **CURRICULUM VITAE**

#### **INFORMACION PERSONAL**

**Nombres y Apellidos:** Eveling Liseth Ugsha Chaluiza

**Cedula de Identidad:** 1207857523

**Fecha de nacimiento:** 04 de enero del 2000

**Estado Civil:** Soltero

**Domicilio:** San Camilo-Quevedo- Los Ríos

**Teléfono:** 0962934889

**Correo electrónico:** Liseth.ugsha12@gmail.com



#### **INFORMACIÓN ACADÉMICA**

##### **Primer Nivel:**

Escuela Particular Mixta “Juan Montalvo”

##### **Segundo nivel:**

Unidad Educativa “Nicolás Infante Díaz”

##### **Tercer Nivel:**

Universidad Técnica de Cotopaxi “Extensión La Maná”

#### **TITULOS OBTENIDOS**

Bachiller en Ciencias

#### **IDIOMAS**

Español (nativo)

Suficiencia en el Idioma de Inglés

#### **SEMINARIOS DE CAPACITACIÓN**

**Suficiencia de inglés:** Universidad Técnica de Cotopaxi

**Curso:** Cisco Networking Academy Introduction to IoT en el año 2020

**Certificado:** Segundas Jornadas Agronómicas, duración de 40 horas académicas en el año 2017

**Certificado:** Por haber participado en el III Congreso Internacional de Investigación Científica UTC- La Mana, duración de 40 horas académicas, en el año 2018

**Certificado:** Por haber participado en el Seminario III Jornadas Agronómicas, organizado por Asesoría de Desarrollo Nacional ADN Consultoría y Servicios C.A., duración de 40 horas en el año 2018.

**Certificado:** Por haber participado en el Ciclo de Conferencias Agrícolas 2020 en modalidad virtual, duración de 40 horas en el año 2020.

**Certificado:** Por haber participado en el V Congreso Internacional de Investigación Científica, duración de 40 horas en el año 2020.

**Certificado:** Por haber participado como asistente en la V Jornadas Agronómicas- Agricultura Sustentable y Sostenible, de la extensión La Maná, duración de 40 horas en el año 2022.

**Anexo 3:** Contrato de cesión no exclusiva de derecho de autor



Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebra de una parte: Ugsha Chaluzza Eveling Liseth con C.C. 1207857523, de estado civil soltera/o y con domicilio en San Camilo-Quevedo-Los Ríos, a quien en lo sucesivo se denominará **LOS CEDENTES**; y, de otra parte, el Ing. Cristian Fabricio Tinajero Jiménez Ph. D., en calidad de Rector y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez Barrio El Ejido Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

**ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA. - LAS CEDENTES** es una persona natural estudiante de la carrera de **Ingeniería Agronómica**, titulares de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado: **“Obtención de plantas in vitro del cultivo de la frambuesa (*Rubus idaeus*) mediante micropropagación, en el Cantón Cevallos, Provincia Tungurahua”** la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad según las características que a continuación se detallan:

Historial académico. Abril 2017 – febrero 2022.

Aprobación HCA. -

Tutor. - Ing. Kleber Augusto Espinosa Cunuhay, MSc.

Tema: **“Obtención de plantas in vitro del cultivo de la frambuesa (*Rubus idaeus*) mediante micropropagación, en el Cantón Cevallos, Provincia Tungurahua”**

**CLÁUSULA SEGUNDA. - LA CESIONARIA** es una persona jurídica de derecho público creada por ley, cuya actividad principal está encaminada a la educación superior formando profesionales de tercer y cuarto nivel normada por la legislación ecuatoriana la misma que establece como requisito obligatorio para publicación de trabajos de investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

**CLÁUSULA TERCERA. -** Por el presente contrato, **LOS CEDENTES** autoriza a **LA CESIONARIA** a explotar el trabajo de grado en forma exclusiva dentro del territorio de la República del Ecuador.

**CLÁUSULA CUARTA. - OBJETO DEL CONTRATO:** Por el presente contrato **LOS CEDENTES**, transfiere definitivamente a **LA CESIONARIA** y en forma exclusiva los siguientes derechos patrimoniales; pudiendo a partir de la firma del contrato, realizar, autorizar o prohibir:

- a) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.
- b) La publicación del trabajo de grado.
- c) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.
- d) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.
- f) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

**CLÁUSULA QUINTA.** - El presente contrato se lo realiza a título gratuito por lo que **LA CESIONARIA** no se halla obligada a reconocer pago alguno en igual sentido **LOS CEDENTES** declara que no existe obligación pendiente a su favor.

**CLÁUSULA SEXTA.** - El presente contrato tendrá una duración indefinida, contados a partir de la firma del presente instrumento por ambas partes.

**CLÁUSULA SÉPTIMA. - CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD.** - Por medio del presente contrato, se cede en favor de **LA CESIONARIA** el derecho a explotar la obra en forma exclusiva, dentro del marco establecido en la cláusula cuarta, lo que implica que ninguna otra persona incluyendo **LOS CEDENTES** podrá utilizarla.

**CLÁUSULA OCTAVA. - LICENCIA A FAVOR DE TERCEROS. - LA CESIONARIA** podrá licenciar la investigación a terceras personas siempre que cuente con el consentimiento de **LAS CEDENTES** en forma escrita.

**CLÁUSULA NOVENA.** - El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en la cláusula cuarta, constituirá causal de resolución del presente contrato. En consecuencia, la resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

**CLÁUSULA DÉCIMA.** - En todo lo no previsto por las partes en el presente contrato, ambas se someten a lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, Código Civil y demás del sistema jurídico que resulten aplicables.

**CLÁUSULA UNDÉCIMA.** - Las controversias que pudieran suscitarse en torno al presente contrato, serán sometidas a mediación, mediante el Centro de Mediación del Consejo de la Judicatura en la ciudad de Latacunga. La resolución adoptada será definitiva e inapelable, así como de obligatorio cumplimiento y ejecución para las partes y, en su caso, para la sociedad. El costo de tasas judiciales por tal concepto será cubierto por parte del estudiante que lo solicitare.

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga a los 31 días del mes de agosto del 2022.

Ugsha Chaluiza Eveling Liseth

**LA CEDENTE**

Ing. Cristian Fabricio Tinajero Jiménez PhD.

**EL CESIONARIO**

**Anexo 4: Certificado de Urkund****Document Information**

---

<b>Analyzed document</b>	SEGUNDO_URKUN_UGSHA.pdf (D143314751)
<b>Submitted</b>	8/27/2022 11:18:00 PM
<b>Submitted by</b>	
<b>Submitter email</b>	kleber.espinosa@utc.edu.ec
<b>Similarity</b>	1%
<b>Analysis address</b>	kleber.espinosa.utc@analysis.orkund.com

**Anexo 5:** Aval de traducción del idioma ingles

UNIVERSIDAD  
TÉCNICA DE  
COTOPAXI



CENTRO  
DE IDIOMAS

## ***AVAL DE TRADUCCIÓN***

En calidad de Docente del Idioma Inglés del Centro de Idiomas de la Universidad Técnica de Cotopaxi; en forma legal **CERTIFICO** que:

La traducción del resumen al idioma Inglés del proyecto de investigación cuyo título versa: **“OBTENCIÓN DE PLANTAS IN VITRO DEL CULTIVO DE LA FRAMBUESA (*Rubus idaeus*) MEDIANTE MICROPROPAGACIÓN, EN EL CANTÓN CEVALLOS, PROVINCIA TUNGURAHUA”**, presentado por **Ugsha Chaluiza Eveling Liseth**, egresados de la Carrera de: **AGRONOMÍA**, perteneciente a la **Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales**, lo realizó bajo mi supervisión y cumple con una correcta estructura gramatical del Idioma.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad y autorizo al peticionario hacer uso del presente aval para los fines académicos legales.

La Maná, agosto del 2022

Atentamente,

Mg. Wendy Núñez  
DOCENTE CENTRO DE IDIOMAS-UTC  
CI: 0925025041

**Anexo 6:** Preparación del material vegetativo de partida de la frambuesa (*Rubus idaeus*).

**Fotografía 1:** selección de la planta madre



**Elaborado por:** Ugsha (2022)

**Fotografía 2:** obtención del explante de partida.



**Elaborado por:** Ugsha (2022)

**Fotografía 3:** desinfección con el fungicida Propamocarb 1 ml por litro del tejido sano.



**Elaborado por:** Ugsha (2022)

**Fotografía 4:** agrupación de las microestacas.



**Elaborado por:** Ugsha (2022)

**Anexo 7:** Fase de esterilización del material vegetativo de partida.

**Fotografía 5:** solución hipoclorito de sodio al 70%



**Elaborado por:** Ugsha (2022)

**fotografía 6:** alcohol al 70 %



**Elaborado por:** Ugsha (2022)

**Fotografía 7:** lavado de los explantes obtenidos para eliminación de bacterias



**Elaborado por:** Ugsha (2022)

**Fotografía 8:** agitación constante entre 5 y 10 minutos



**Elaborado por:** Ugsha (2022)

**Fotografía 9:** preparación de los explantes para ser revisados.



**Elaborado por:** Ugsha (2022)

**Fotografía 10:** corte de quemaduras por causa de la desinfección.



**Elaborado por:** Ugsha (2022)

**Fotografía 11:** introducción a condiciones controladas.



**Elaborado por:** Ugsha (2022)

**Fotografía 12:** a los 45 días de establecimiento.



**Elaborado por:** Ugsha (2022)

## Anexo 8: Fase de introducción in vitro.

**Fotografía 13:** Preparación del medio.



Elaborado por: Ugsha (2022)

**Fotografía 14:** Medio Murashige y skoog.



Elaborado por: Ugsha (2022)

**Fotografía 15:** introducción del explante.



Elaborado por: Ugsha (2022)

**Fotografía 16:** cámara de crecimiento en condiciones controladas.



Elaborado por: Ugsha (2022)

## Anexo 9: Fase de multiplicación de la frambuesa.

**Fotografía17:** Medios de cultivo MS+AG+BAP; MS+AG+KN; MS+BAP; MS (testigo).



Elaborado por: Ugsha (2022)

**Fotografía 18:** hormonas de crecimiento.



Elaborado por: Ugsha (2022)

**Fotografía 19:** tratamientos T1 MS+ AG+BAP; **Fotografía 20:** fase de multiplicación.  
T2MS+ AG+KN; T3 MS+BAP; T4 MS (testigo).



**Elaborado por:** Ugsha (2022)

**Elaborado por:** Ugsha (2022)

**Fotografía 21:** multiplicación de los explantes.

**Fotografía 22:** observación en la cabina de flujo laminar, la multiplicación y la contaminación.



**Elaborado por:** Ugsha (2022)

**Elaborado por:** Ugsha (2022)

**Fotografía 23:** traslado hacia la cámara de crecimiento.



**Elaborado por:** Ugsha (2022)

**Anexo 10:** Fotografías de los diferentes tratamientos.

**Fotografía 24:** T1 MS+ AG+BAP.



Elaborado por: Ugsha (2022)

**Fotografía 25:** T2MS+ AG+KN.



Elaborado por: Ugsha (2022)

**Fotografía 26:** T3 MS+BAP.



Elaborado por: Ugsha (2022)

**Fotografía 27:** T4 MS (testigo).



Elaborado por: Ugsha (2022)

**Anexo 11:** Toma de datos de las variables evaluadas

**Fotografía 28:** porcentaje de contaminación



Elaborado por: Ugsha (2022)

**Fotografía 29:** longitud de brote (cm)



Elaborado por: Ugsha (2022)

**Fotografía 30:** Número de hoja por explante.**Elaborado por:** Ugsha (2022)**Fotografía 31:** Número de brotes formado por explante**Elaborado por:** Ugsha (2022)**Fotografía 32:** Número de hoja por brote**Elaborado por:** Ugsha (2022)**Fotografía 33:** Presencia de callo**Elaborado por:** Ugsha (2022)**Fotografía 34:** Largo de raíz (cm).**Elaborado por:** Ugsha (2022)**Fotografía 35:** Número de raíz por explante.**Elaborado por:** Ugsha (2022)

**Fotografía 36:** almacenamiento a ambientes controlados.



**Elaborado por:** Ugsha (2022)